

I.

A simvastatin kezelés hatása hypercholesterinaemiás, coronaria X-szindrómás betegek endothelfunkciójára

Fábián Emília dr.¹, Varga Albert dr.²

Belügyminisztérium Központi Kórház és Intézményei, III Belgyógyászati és Kardiológia (osztályvezető főorvos: Stock Imre dr.)¹

Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum, Általános Orvostudományi Kar, II. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ (igazgató: Csanády Miklós dr.)²

Bevezetés: Coronaria X-szindrómás betegekben csökkent coronariaperfúzió és kóros endotheldiszfunkció észlelhető. **Célkitűzés:** Vizsgálatunk célja a simvastatin kezelés hypercholesterinaemiás, coronaria X-szindrómás betegek terhelésre jelentkező ischaemiára utaló ST-depressziójára, illetve az endothelfunkcióra kifejtett hatásának értékelése volt. **Betegek/módszerek:** 25 hypercholesterinaemiás (15 férfi, átlagos életkor $55,0 \pm 3,0$ év) ép coronarogrammal, de pozitív terheléses EKG-val (ST-depresszió $> 0,1$ mV) rendelkező beteg endotheliumfüggő vasodilatációjának mértékét határoztuk meg Celermayer módszere alapján. Betegeink 12 héten keresztül 20 mg simvastatin kezelésben részesültek. A kezelés előtt és után terheléses EKG-t, az arteria brachialis ultrahangos vizsgálatát végeztük el, valamint meghatároztuk a szérumlipidszinteket. **Eredmények:** A szérumösszkoleszterinszint szignifikáns csökkenését (0. hét = $5,82 \pm 0,19$ vs. 12. hét = $4,49 \pm 0,17$ mmol/l, $p < 0,01$), a HDL-koleszterin-szint szignifikáns növekedését (0. hét = $1,05 \pm 0,16$ mmol/l vs. 12. hét = $1,11 \pm 0,14$ mmol/l, $p < 0,001$) észleltük a simvastatin kezelést követően. Szignifikánsan nőtt az endothelfüggő vasodilatatio (0. hét = $3,97 \pm 0,91\%$ vs. 12. hét = $6,84 \pm 0,89\%$, $p < 0,05$). Az endothelindependens nitrátra adott válaszban nem találtunk szignifikáns eltérést a vizsgálat fázisaiban. Az ST-depressziómentes terhelési időt szignifikánsan hosszabbnak találtuk (0. hét = $5,18 \pm 2,01$ vs. 12. hét = $6,01 \pm 1,94$ min, $p < 0,001$). **Következtetések:** Eredményeink amellett szólnak, hogy a simvastatin kezelés javítja mind a szisztémás, mind a coronaria endothel működést. Utóbbi a hosszabb ischaemia mentes terhelési időben nyilvánul meg.

Kulcsszavak: endothelfunkció, coronaria X-szindróma, simvastatin

Effect of simvastatin therapy on endothelial function of hypercholesterolemic patients with syndrome X.

Introduction: Cardiac syndrome X patients often have both reduced coronary circulation and impaired systemic endothelial function. **Aims:** The aim of our study was to assess the effect of chronic statin therapy on exercise-induced „ischemic like” ST segment depression and on systemic endothelial function in cardiac syndrome X patients with hypercholesterolemia. **Patients/methods:** In 25 hypercholesterolemic patients (15 males, mean age 55 ± 3 years) with a normal coronary angiogram and positive exercise ECG test (> 0.1 mV ST segment depression) the flow mediated dilatation (FMD) was assessed by measuring the change in brachial artery diameter in response to hyperemic flow by vascular ultrasound. All patients were treated with 20 mg simvastatin in duration of 12 weeks. Following the treatment the exercise ECG and the vascular ultrasound studies were repeated. **Results:** There was a significant decrease in total serum cholesterol level (baseline = 5.82 ± 0.19 mmol/L vs. study end = 4.49 ± 0.17 mmol/L, $p < 0.01$) and significant increase in the serum HDL level (baseline = 1.05 ± 0.16 mmol/L vs. study end = 1.11 ± 0.14 mmol/L, $p < 0.01$) following the statin treatment. Parallely brachial artery FMD increased significantly (baseline = $3.97 \pm 0.91\%$ vs. study end = $6.84 \pm 0.89\%$, $p < 0.05$). Responses to nitroglycerin were similar during the time course of the study. The ischemia free stress test time was also higher at the study end (baseline = 5.18 ± 2.01 min vs. study end = 6.01 ± 1.94 min, $p < 0.001$). **Conclusions:** The chronic statin therapy exerts beneficial effects both on systemic and coronary endothelial function in hypercholesterolemic patients with cardiac syndrome X.

Key words: endothelial function, cardiac syndrome X, simvastatin

A coronaria X-szindrómás betegek a típusos anginas tünetegyüttes és a terhelés során provokálható ischaemiára utaló EKG-eltérések mellett a negatív coronarographia jellemző. Ebben a betegcsoportban többnyire coronariaspasmus sem provokálható (1). A szindróma magyarázatára született elméletek többsége szerint a kórkép cardialis, ugyanakkor egy generalizált microvascularis betegség része, amely a coronariák csökkent rezervkapacitásával és ennek

következtében károsodott coronariakeringéssel jár. Ismert tény ezen betegek felkari ischaemiára adott kóros vasodilatatív válasza (13, 24). Atherosclerosisban, illetve már az atherosclerosishoz vezető rizikóállapotokban, például hypercholesterinaemiában is kimutatható az endothelsejtek diszfunkciója (25), amely szisztémás jelenség noninvaszív tanulmányozására alkalmazható a vascularis ultrahangvizsgálat (4, 17). Szisztémás endotheldiszfunkcióban az anatómiailag ép koszorúerek ellenére terheléses EKG során ischaemiára utaló ST-depresszió mutatkozhat (7). A szerzők célja a krónikus simvastatin kezelés coronaria X-szindrómás betegek koszorúér és szisz-

Rövidítések: FMD = áramlás (flow) által medially dilatatio; NIDDM = nem inzulindependens diabetes mellitus; NO = nitrogén-monoxid

témás endothel funkciójára kifejtett hatásának értékelése volt, amelyet a következő elméleti pillérekre építettük: hypercholesterinaemiás, normális coronagrammal rendelkező betegek terheléses EKG során észlelhető ischaemiára utaló ST-depressziója a szisztémás endotheldiszfunkció következménye; terhelés által kiváltható ischaemiás EKG-eltérések megszűnése a koleszterinszint-csökkentő kezelés hatására javuló endothelfunkciót tükrözi.

Módszer

Betegcsoport

1999–2000-ben a Belügyminisztérium Központi Kórház és Intézményei III. Belgyógyászat-Kardiológiai osztályán vizsgált coronaria X-szindrómás betegek közül 25 beteget (15 férfi, átlagos életkor $55,0 \pm 3$ év) vontunk be a következő beválasztási kritériumok alapján: szabályos coronagram, pozitív terheléses EKG, jó globális bal kamra funkció, emelkedett szérumkoleszterin-szint ($> 5,2$ mmol/l), nikotinabsztinencia. 3 beteg hypertóniás volt, 1 betegben NIDDM állt fenn (1. táblázat). A betegek az American Heart Association által javasolt II. fokozatú diétát tartották, illetve 12 héten keresztül 20 mg simvastatin kezelésben részesültek. A terheléses EKG-t, az endothelfüggő vasodilatációt (FMD) és laboratóriumi vizsgálatokat 2 független vizsgáló értékelte, akik a betegek személyi adatait, a vizsgálat fázisát (0. vagy 12. hét), illetve az egyéb vizsgálati eredményeket nem ismerték.

1. táblázat: A betegek adatai

Életkor (évek)	$55,0 \pm 3,0$
Férfi/nő	15/10
Hypertonia, n (%)	3 (11)
Diabetes mellitus, II. típus, n (%)	1 (4)
Dohányzó, n (%)	0 (0)
Szérumkoleszterin (mmol/l)	
össz	$5,82 \pm 0,19$
LDL	$4,42 \pm 0,18$
HDL	$1,05 \pm 0,16$
Triglicerid (mmol/l)	$2,19 \pm 0,18$
Egyidejű egyéb gyógyszerelés, n (%)	
Aspirin	25 (100)
ACE-inhibitor	0 (0)
Kalciumantagonisták	21 (84)
Béta-receptor-blokkolók	19 (76)
Nitrát	0 (0)

Az adatokat átlag \pm standard deviációban tüntettük fel

Laboratóriumi mérések

Meghatároztuk a szérumösszkoleszterin-, HDL-koleszterin-, illetve szérumtriglicerid-szinteket. Az LDL-szintet a Friedewald-képlet alapján számítottuk.

Terheléses EKG

A betegeken kerékpár-ergometriát végeztük módosított Bruce-protokoll szerint. A terheléses EKG-t $> 0,1$ mV (0,08 s-mal a J pont után) ST-depresszió jelentkezése esetén tekintettük pozitívnak. A nyugalmi EKG-n Q-hullá-

mokat reprezentáló elvezetésekben észlelhető ST-elevációt nem tekintettük a pozitivitás kritériumának. A terhelési időt (percekben) is elemeztük, különös tekintettel a terhelés kezdetétől számított 0,1 mV ST-depresszió megjelenési idejére (ischaemiamentes idő).

Endothelfunkció

Az endothelfüggő vasodilatációt (FMD) az arteria brachialisban, ischaemiát követő reaktív hyperaemia által kiváltott érátmérő változása alapján határoztuk meg. A vizsgálatokat 12.00–15.00 óra között, minimum 4 órával az utolsó étkezést követően végeztük. Hewlett Packard SONOS 2000 ultrahangkészülékhez csatlakoztatott 7,5 MHz transducert alkalmaztunk. A vizsgálat előtt a betegek 10 percet hanyatt fekvé pihentek a 20–25°C hőmérsékletű vizsgálóléghelyiségben.

Az artéria brachialis átmérőjét 2D-módban longitudinális metszetben (1. ábra), a jobb vagy bal felkaron, fix távolságra egy anatómiai markertől, például bifurcatiótól, 2–15 cm-rel a könyökhajlat felett vizsgáltuk. Az anterior „m”-vonal és a posterior „m”-vonal közötti távolságot végdiastoleban, EKG-kapuzással mértük. 5 szív ciklust elemeztünk, majd a méréseket átlagoltuk. Az artériában mérhető áramlási sebességet 70° szögben pozícionált Doppler-jellel mértük. A felvételeket nyugalomban, a reaktív hyperaemia alatt, ismét nyugalomban, végül sublingualis nitrát alkalmazását követően készítettük. Az alpmérések után a vérnyomásmérő mandzsettáját a könyökhajlat alá helyeztük, a mandzsettát 300 Hgmm fölé fújtuk, s az alkart 4,5 percre leszorítottuk. Számos vizsgálatban a felkar leszorítását is alkalmazták, de mi az alkar leszorítását választottuk, mivel ez kevésbé kellemetlen a betegnek (8). Ismert tény, hogy tartós maximális artériatágulás és maximális áramlásnövekedés legalább 4,5 perc leszorítást igényel, hosszabb idő pedig nem okoz kifejezettebb választ (9). A felengedést követő 45 és 60 s intervallumban ismét megmértük az érátmérőt. Az ér eredeti állapotába való visszatéréséhez szükséges 10 percnyi nyugalmi állapot után sublingualis nitrátot adtunk. Köztudott, hogy a sublingualisan adott 200 mcg isosorbid dinitrátra maximális az értágulat, nagyobb adag nem okoz kifejezettebb választ (9). A sublingualis nitrát alkalmazását követően 3 perccel végeztük az utolsó méréseket.

Statisztikai analízis

A mért értékeket átlag \pm standard deviációban fejeztük ki. A simvastatin kezelés előtt és után kapott eredmények statisztikai analíziséhez egymintás Student-t próbát alkalmaztunk. A korrelációk meghatározására Pearson-korrelációt használtunk. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

Koleszterinszintek

Az összkoleszterinszint szignifikáns csökkenését (0. hét = $5,82 \pm 0,19$ mmol/l vs. 12. hét = $4,49 \pm 0,17$ mmol/l, $p < 0,01$), valamint a HDL-szint szignifikáns növekedését észleltük a kezelést követően (0. hét = $1,05 \pm 0,18$ mmol/l vs. 12. hét = $1,11 \pm 0,14$ mmol/l, $p < 0,01$). Ugyanakkor az LDL szint szignifikáns csökkenését tapasztaltuk (0. hét = $4,42 \pm$

0,18 mmol/l vs. 12. hét = $3,29 \pm 0,21$ mmol/l, $p < 0,05$). Szignifikáns korreláció mutatkozott az összkoleszterin csökkenése és a HDL-szint növekedése között ($r = 0,568$, $p < 0,05$). A friglycesid szintek nem változtak szignifikánsan a vizsgálat ideje alatt.

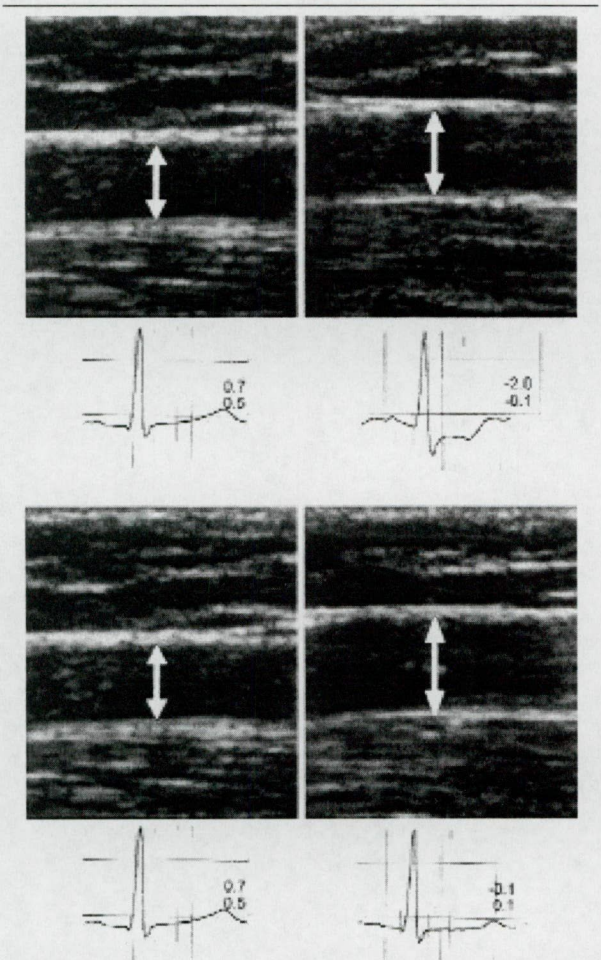
Terheléses EKG

A beválogatási kritériumoknak megfelelően a vizsgált betegek első terheléses EKG-ja pozitív eredményű volt. 12 hét simvastatin kezelést követően 4 beteg esetében a terheléses EKG során nem alakultak ki kóros EKG-eltérések. 21 beteg esetében az ST-depresszió-mentes terhelési időt szignifikánsan hosszabbnak találtuk a vizsgálat végén (0. hét = $5,18 \pm 2,01$ min vs. 12. hét = $6,01 \pm 1,94$ min, $p < 0,001$).

2. táblázat: A terheléses EKG eredményei a vizsgálat fázisaiban

	0. hét	12. hét	p
Szignifikáns ST-depresszió, n	25 pozitív	21 pozitív	
Ischaemiamentes idő (min)	$5,18 \pm 2,01$	$6,01 \pm 1,94$	$p < 0,001$

Az adatokat átlag \pm standard deviációban tüntettük fel



1. ábra: Az endothel funkció változása a vizsgálat fázisaiban (FMD = flow mediált dilatáció)

Vascularis ultrahangvizsgálat

Az arteria brachialis áramlás (flow) által mediált dilatációja szignifikánsan nőtt a kezelést követően (0. hét = $3,97 \pm 0,91\%$ vs. 12. hét = $6,84 \pm 0,89\%$, $p < 0,05$) (1. ábra). A nitrátra adott válasz hasonló volt a vizsgálat mindkét stádiumában (0. hét = $18,90 \pm 1,15\%$ vs 12. hét = $21,01 \pm 1,21\%$, $p = ns$).

Megbeszélés

A simvastatin kezelés javítja mind a szisztémás, mind a coronaria endothel funkciót hypercholesterinaemiás, coronaria X-szindrómás betegekben.

A hypercholestreinaemia hatása az endothelfunkcióra

Az endothel autokrin és parakrin mediátorok felszabadítása révén kulcsszerepet tölt be a vaszkularis homeosztázis szabályozásában (14). Az endothel-diszfunkció szisztémás működési zavar, amely megelőzi az atherosclerosis morfológiai megjelenését (18). A rizikófaktorok okozta oxidatív stressz sarkalatos pontnak tűnik az endothelfunkció romlásában, különösen érvényes ez a hypercholesterinaemia meglétére. Mint azt már bizonyították, az oxidált LDL különösen fontos tényezője lehet az endothelfüggő vasorelaxatio csökkenésének, mely funkciót károsító hatása valószínűleg a lizofoszfatidil-kolin, a proteinkináz C és G proteinek részvételével valósul meg (10, 12, 15, 22). Ráadásul, a képződött oxigén szabad gyökök az NO direkt inaktiválásán keresztül is rongálhatják az endothelfunkciót (16). A hypercholesterinaemia tehát egy sor változást indít a vascularis homeosztázisban, többek között a NO bioreaktivitásának csökkenését, a szuperoxidtermelés és az endothelin immunreaktivitásának növekedését, az adhéziós molekulák felszaporodását és mindezek által az endothelfüggő vasodilatatio csökkenését (5, 6, 11).

A koleszterin által indukált endotheldiszfunkció mértéke azonban nemcsak az LDL-koncentrációtól, hanem is az oxidált LDL mennyiségétől függ (20).

Több vizsgálat kimutatta a koleszterinszint-csökkentő kezelés endothelfunkciót javító hatását. Ohara és mtsai bizonyították, hogy a koleszterinszegény diéta javítja az endothelfüggő vazodilatációt, illetve normalizálja az endotheliális superoxid produkciót (21). Anderson és munkacsoportja az LDL-csökkentő és antioxidáns kezelés, simvastatin és probucol kombinálásának hatására a koszorúerek endothelfunkciójának csaknem teljes normalizálódását észlelte (22).

Primer hypercholesterinaemiában az atorvastatin vagy simvastatin és cholestyramin kezelés javította az endothelfunkciót, és ez a hatás a későbbiekben bekövetkező coronariaesemények megelőzésében is megnyilvánult (21). A statinok mindezen túl hatnak

a vascularis tónusra a vazoaktív faktorok felszabadulásának modulálása által is (24). További előnyös hatásuk, hogy csökkentik az elektronegatív alacsony denzitású LDL arányát is és valószínűleg ezen citotoxikus részecskék mennyiségének csökkentése lehet az a jelentős mechanizmus, amely eredményeképpen a simvastatin megelőzi a cardiovascularis betegségek kialakulását (25). Úgy tűnik, e hatások némelyike nem függ a gyógyszerek koleszterinszintet csökkentő effektusától, inkább az endotheliumból fokozódó NO-felszabadulásnak tulajdonítható, ezzel valószínűleg jelentősen hozzájárulva a HMG-CoA-reduktáz-gátlók koszorúér-betegségben való alkalmazásának klinikai hatékonyságához, amely független a koleszterinszint csökkentésétől (7). Eredményeink is egyeznek az említettekkel, hiszen a coronaria X-szindrómás betegek simvastatin kezelése következtében az endothelfunkció javulását igazoltuk.

Terhelésre jelentkező ischaemiára utaló ST-depresszió ép koszorúerek esetében: a szisztémás endotheldiszfunkció markere

Irodalmi adatok szerint a pozitív terheléses EKG-t produkáló coronaria X-szindrómás betegek az összes X-szindrómás beteg kb. 20%-át képviselik, ezen betegek esetében a legvalószínűbb az endotheldiszfunkció kóroki szerepe. Eredményeink is arra utalnak, hogy az ép coronariák ellenére észlelhető terhelésre jelentkező ST-depresszió kóros szisztémás endothelfunkcióval társul. Ahhoz, hogy bizonyíthassuk e két faktor közötti ok-okozati összefüggést, fontos volt annak dokumentálása, hogy a terhelésre jelentkező ischaemia csökken az endothelfunkciót javító adekvát terápia hatására.

A problémát már más kutatócsoportok is tanulmányozták a miénktől eltérő beteganyagban és módszerrel. *Virdis és mtsai* által vizsgált szabályos coronarogrammal, de dipiridamol stressz echocardiographia során indukálható ST-depresszióval rendelkező hypertóniásokban magasabb vascularis rezisztenciát mértek mind vénás pletizmográfiával, mind intrabrachialisán adott endogén vasodilatator acetilkolin alkalmazása során. Ezen túlmenően 12 hónapos ACE-gátló kezelés után a vascularis rezisztencia szignifikáns csökkenését csak azokban a betegekben tapasztalták, akik a vizsgálatba történő bevonáskor terhelésre ischaemiára utaló ST-depresszióval választottak, de a vizsgálat végén az ST-depresszió már nem jelentkezett.

Vizsgálatunk hasonló *Virdis és mtsai* tanulmányához számos módszertani különbség ellenére: ők ugyanis esszenciális hypertóniásokat vizsgáltak, míg mi hypercholesterinaemiás coronaria X-szindrómás betegeket; stresszfaktorként dipiridamolt alkalmaztak, mi fizikai terhelést. A gyógyszeres kezelés is alapvetően különbözött, mivel ők ACE-inhibitort, mi statin terápiát alkalmaztunk. Az endothelfunkciót ugyancsak eltérő módszerekkel mértük: vénás pletizmográfiával *Virdis és mtsai*, míg mi magas frekvenciájú ultrahanggal.

Mindezen módszertani különbségek ellenére a két vizsgálat eredményei konvergálnak, hangsúlyozva azt, hogy a stresszre jelentkező ST-depresszió valószínűleg endotheldiszfunkció következménye, amely visszafordítható az alapvető etiológiai faktort célzó kezeléssel. Vizsgálatunk is azt támasztja alá, hogy a simvastatin kezelés javítja mind a szisztémás, mind a koszorúér endothel működést terhelésre ST-depresszióval reagáló hypercholesterinaemiás, coronaria X-szindrómás betegekben.

A vizsgálat korlátai

A vizsgált betegek esetében egyéb endotheldiszfunkciót okozó tényezők is fennálltak, úgy mint diabetes, magas vérnyomás, esetleges párhuzamos gyógyszeres kezelés. Mindazonáltal, a klinikai állapot és a beválasztásnál alkalmazott kezelés a vizsgálat tartama alatt nem változott, így nem valószínű, hogy befolyásolták az eredményeket.

A vizsgálat prospektív volt, de nem volt sem randomizált, sem placebokontrollált. Ugyanakkor, konzekutív betegeket vontunk be, a vizsgálok a laboratóriumi tesztek, terheléses EKG-t és az endothelfunkció mérését egymástól függetlenül végezték, nem ismerték a vizsgálat stádiumát (0. hét vagy 12. hét) az értékelés időpontjában.

Vizsgálatunk kicsi volt a betegszám (mindössze 25 beteget vontunk be), azonban a beválasztás szigorú kritériumok alapján történt és így igen homogén betegcsoporthoz jutottunk.

IRODALOM: 1. Kemp, G. H.: Left ventricular function in patients with angina syndrome and normal coronary arteriograms. *Am. J. Cardiol.*, 1973, 32, 375-376. – 2. Vrints, C. J., Bult, H., Hitter, E. és mtsai: Impaired endothelium dependent coronary vasodilatation in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1992, 19, 21-31. – 3. Motz, W., Vogt, M., Rabenau, O. és mtsai: Evidence of endothelial dysfunction in coronary resistance vessels in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms. *Am. J. Cardiol.*, 1991, 68, 996-1003. – 4. Zhang, X., Zhao, S. P., Li, X. P. és mtsai: Endothelium-dependent and -independent functions are impaired in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis*, 2000, 149, 19-24. – 5. Raitakari, O. T., Celermayer, D. S.: Flow - mediated dilatation. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2000, 50, 397-404. – 6. Celermayer, D. S., Sorensen, K. E., Gooch, V. M. és mtsai: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*, 1992, 340, 1111-1115. – 7. Botker, H. E., Sonne, H. S., Sorensen, K. E.: Frequency of systemic microvascular dysfunction in syndrome X and in variant angina. *Am. J. Cardiol.*, 1996, 78, 182-186. – 8. Mannion, T. C., Vita, J. A., Keaney, J. F. és mtsai: Non-invasive assessment of brachial artery endothelial vasomotor function: the effect of cuff position on level of discomfort and vasomotor responses. *Vasc. Med.*, 1998, 3, 263-267. – 9. Leeson, P., Thorne, S., Donald, A. és mtsai: Non-invasive measurement of endothelial function: effect on brachial artery dilatation of graded endothelial dependent and independent stimuli. *Heart* 1997, 78, 22-27. – 10. Moncada, S., Higgs, A.: The L-arginine-NO pathway. *N. Engl. J. Med.*, 1993, 329, 2002-2012. – 11. Reddy, K. G., Nair, R. N., Sheehan, H. M. és mtsai: Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultrasound atherosclerosis in patients with risk factors for atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1994, 23, 833-843. – 12. Steinberg, D.: Antioxidants and atherosclerosis: a current assessment. *Circulation*, 1991, 84, 1420-1425. – 13. Kugiyama, K., Ohgushi, M., Sugi-

yama, S. és mtsai: Lysophosphatidylcholine inhibits surface receptor-mediated intracellular signals in endothelial cells by a pathway involving protein kinase C activation. *Circ. Res.*, 1992, 71, 1422-1428. – 14. Ohgushi, M., Kugiyama, K., Fukunaga, K. és mtsai: Protein kinase C inhibitors prevent impairment of endothelium-dependent relaxation by oxidatively modified LDL. *Arterioscler Thromb.*, 1993, 13, 1525-1532. – 15. Liao, J. K., Clark, S. L.: Regulation of G-protein alpha i2 sbunit expression by oxidized low-density lipoprotein. *J. Clin. Invest.*, 1995, 95, 1457-1463. – 16. Rubanyi, G. M., Vanhouette, P. M.: Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am. J. Physiol.*, 1986, 250, H822-H827. – 17. Lerman, A., Webster, M. W., Chesebro, J. H. és mtsai: Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in hypercholesterolemic pigs. *Circulation*, 1993, 88, 2923-2928. – 18. Davi, G., Romano, M., Mezzetti, A. és mtsai: Increased levels of soluble P-selectin in hypercholesterolemic patients. *Circulation*, 1998, 97, 953-957. – 19. Creager, M. A., Cooke, J. P., Mendelsohn, M. E. és mtsai: Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.*, 1990, 86, 228-234. – 20. Anderson, T. J., Meredith, I. T., Charbonneau, F. és mtsai: Endothelium-dependent coronary vasomotion relates to the susceptibility of LDL to oxidation in humans. *Circulation*, 1996, 93, 1647-1650. – 21. Ohara, Y., Peterson, T. E., Sayegh, H. S. és mtsai: Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. *Circulation*, 1995, 92, 898-903. – 22. Anderson, T. J., Meredith, I. T., Yeung,

A. C. és mtsai: The effect of cholesterol lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N. Engl. J. Med.*, 1995, 332, 488-493. – 23. Simons, L. A., Sullivan, D., Simons, J. és mtsai: Effects of atorvastatin monotherapy and simvastatin plus cholestyramine on arterial endothelial function in patients with severe primary hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*, 1998, 137, 197-203. – 24. Hernandez-Perera, O., Perez-Sala, D., Navarro-Antolin, J. és mtsai: Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J. Clin. Invest.*, 1998, 101, 2711-2709. – 25. Sanchez-Quesada, J. L., Ojal-Entraigas, C., Franco, M. és mtsai: Effect of simvastatin treatment on the electro-negative low-density lipoprotein present in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am. J. Cardiol.*, 1999, 84, 655-659. – 26. Dupuis, J., Tardif, J. C., Cernacek, P. és mtsai: Cholesterol reduction rapidly improves endothelial function after acute coronary syndromes. The RECIFE (Reduction of cholesterol in ischemia and function of the endothelium) trial. *Circulation*, 1999, 99, 3227-3233. – 27. Virdis, A., Ghiadoni, L., Lucarini, R. és mtsai: Presence of cardiovascular structural changes in essential hypertensive patients with coronary microvascular disease and effects of long-term treatment. *Am. J. Hypertens.*, 1996, 9, 361-369.

(Fábián Emília dr., Budapest, Török u. 6. 1023
e-mail: dr.fabian.emilia@ihklinika.hu)

II.

Magyar konszenzus az artéria brachialis áramlásfüggő „flow-mediated” vasodilatációjának vizsgálatához

DR. NAGY LAJOS, DR. BAJKÓ SÁNDOR, DR. FÁBIÁN EMÍLIA,
 DR. FARKAS KATALIN, DR. FAZAKAS ÁDÁM, DR. FORSTER TAMÁS,
 DR. JÁRAI ZOLTÁN, DR. KOLOZSVÁRI ENDRE, DR. KOVÁCS IMRE,
 DR. PÁLINKÁS ATTILA, DR. PÉCSVÁRADY ZSOLT, DR. RÓNASZÉKI ALADÁR,
 DR. VARGA ALBERT, DR. VERECZKEY GÁBOR

ÖSSZEFOGLALÁS

A vascularis endothel szerepe az értónus, a thrombocyt funkció, az érfalban lejátszódó gyulladásos folyamatok és a véralvadás szabályozásában napjainkban már teljesen egyértelmű. Nagy felbontású ultrahangkészülékkel vizsgálva az artéria brachialist, azt észleljük, hogy a véráramlás fokozódása ép endothel mellett dilatációt vált ki az érben. Ez az úgynevezett flow mediated dilatáció. Az arteriosclerosis, illetve egyes rizikófaktorok (dohányzás, diabetes mellitus, hyperinsulinaemia, hypercholesterinaemia, idősebb életkor) esetén csökken a dilatáció mértéke, illetve akár vasoconstrictio is jelentkezhet. A módszer nagy előnye, hogy non invazív és módot ad a betegek ismételt vizsgálatára. Hátránya viszont, hogy vizsgálófüggő, illetve az eltérő vizsgálati körülmények miatt az eredmények értékelése, főleg különböző vizsgálati helyek esetén nehézségekbe ütközik. A jelen irányelvek megfogalmazásának célja, hogy amennyire lehetséges, standardizáljuk a módszert, legalább Magyarországon.

HUNGARIAN CONSENSUS

FOR THE EXAMINATION OF FLOW-DEPENDENT, FLOW-MEDIATED VASODILATATION OF BRACHIAL ARTERY

Lajos Nagy M. D. et al.

Nowadays the role of the vascular endothel in vascular tone, platelet function, inflammation processes in the vessel wall and regulation of blood coagulation are unambiguous. Examining the brachial artery with a high resolution ultrasound equipment during increasing of flow, will result vasodilatation if the endothel is sound. This is the flow mediated vasodilatation. In case of arterio-sclerosis or risk factors (smoking, diabetes mellitus, hyperinsulinaemia, hypercholesterinaemia, advanced age) the degree of dilatation decreases or vasoconstriction can be seen. The benefit of this method is that non invasive and there is the possibility to repeat the examination. Drawback is that the examination is person dependent and the evaluation of results are difficult in other work places. The aim of this document is to standardise the method in Hungary.

Bevezetés

A vascularis endothel szerepe az értónus, a thrombocytá funkció, az érfalban lejátszódó gyulladásos folyamatok és a véralvadás szabályozásában napjainkban már teljesen egyértelmű. Az endothel funkció tanulmányozása invazív és nem invazív módon lehetséges. 1992-ben ismertettek először egy klinikai gyakorlatban használható nem invazív módszert, mellyel az artériák dilatációja alapján lehet az endothel funkcióra következtetni (2, 3). A módszer alapja, hogy nagy felbontású ultrahangkészülékkel vizsgálva az artéria brachialist, azt észleljük, hogy a véráramlás fokozódása ép endothel mellett dilatációt vált ki az érben. Ez az úgynevezett flow mediat dilatáció (FMD). Az arteriosclerosis, illetve egyes rizikófaktorok (dohányzás, diabetes mellitus, hyperinsulinemia, hypercholesterinaemia, idősebb életkor) esetén csökken az FMD mértéke, illetve akár vasoconstrictio is jelentkezhet (2, 3, 5).

A módszer nagy előnye, hogy non invazív és módot ad a betegek ismételt vizsgálatára. Hátránya viszont, hogy vizsgálófüggő, illetve az eltérő vizsgálati körülmények miatt az eredmények értékelése, főleg különböző vizsgálati helyek esetén nehézségekbe ütközik. A jelen irányelvek megfogalmazásának célja, hogy amennyire lehetséges, standardizáljuk a módszert legalább Magyarországon. A konszenzus természetesen nagy mértékben figyelembe vette az idei év elején megjelent nemzetközi ajánlást (4). Az ott nyitva hagyott kérdésekre próbált választ keresni, illetve néhány pontban attól eltérő véleményt fogalmaz meg.

Az FMD élettana

Csak a legalapvetőbb összefüggésekre hagyatkozunk. Az erekben, így az artéria brachialisban is a megnövekedett áramlás következtében az en-

dothelre nagyobb nyíró feszültség hat, mely normál esetben az ér tágulásához vezet. Ebben a tágulásban az endothel NO kiválasztásának fokozódása a döntő. A NO mellett fontos a többi vasodilatátor és vasoconstrictor anyag pillanatnyi aránya az érfalban. A megnövekedett áramlás okozta tágulás mértéke nagyban függ magának az érfalnak a tágulékonyaságától, más szóval compliance-étől is. Összességében tehát az FMD mértéke nem csak az endothel funkciót, hanem a komplex vascularis funkciót jelzi.

Az FMD vizsgálatának módszertana

1. A vizsgálat elvégzése

1.1 Beteg előkészítése

Tekintettel arra, hogy számos tényező befolyásolja az FMD értékét, a vizsgálatot standardizált körülmények között szükséges végezni.

Amennyiben egy adott populáció (például egészséges férfiak) FMD értékét akarjuk meghatározni, akkor a vizsgálatot éhgyomorra legalább fél óras pihenést követően egy csendes, lehetőleg átlagos hőmérsékletű, elsötétített szobában szükséges végezni. A vizsgált személy a vizsgálat előtt nem fogyaszthat kávé, teát, antioxidáns vitaminokat, nem dohányozhat. Amennyiben egy betegcsoport (pl. hypertóniások, diabetesesek) FMD értékét akarjuk meghatározni és viszonyítani a normál kontrollhoz, a vizsgálatot szintén a fentieknek megfelelően kell elvégezni. Ebben az esetben a vasoaktív gyógyszereket a felezési idő négyszeresénél hosszabb ideig ki kell hagyni.

Más a helyzet, ha egy adott beavatkozás (pl. egy gyógyszer) FMD-re gyakorolt hatását akarjuk megítélni. Itt az a lényeg, hogy a beavatkozás előtti és a beavatkozás utáni körülmények összemérhetőek legyenek, tekintettel arra, hogy a vizsgálat önkontrollos. Ekkor nem tartjuk szükségesnek a beteg standard gyógyszerelésének átmeneti elhagyását. Ennek két oka van. Egyik az, hogy a beteg vasoaktív ter-

ápia az endothel funkcióra akut és krónikus hatással van. A krónikus hatás tisztázatlan ideig, de napokig, akár hetekig is fennmaradhat (ld. BANFF study) (1). Emiatt a 72 óra nem is lenne elég egy FMD-t befolyásoló gyógyszer hatásának teljes megszüntetéséhez, és egy gyógyszer FMD-re gyakorolt hatásának megszűnésének dinamikája valószínűleg egyénenként jelentősen különböző.

Egy gyógyszer FMD-re gyakorolt hatását egy adott standard terápián (ami vizsgálat kezdete előtti 3 hónapban nem változott) lévő betegcsoporton is megítélhetjük. Fontos, hogy a beteg által szedett bázis terápia a vizsgálandó szer beállítását után a vizsgálat egész ideje alatt ne változzon. Ugyancsak fontos, hogy a vizsgálat ideje alatt ne változzon a beteg életmódja, illetve testsúlya. A vizsgálandó szert sem szükséges a szer hatását megítélő FMD mérés előtt elhagyni, hiszen akkor az adott szer FMD-re gyakorolt rövid távú hatása elvész az értékelés szempontjából. A mindennapi gyakorlat is az, hogy egy adott terápia mellé adunk javítási szándékkal egy újabb szert. Természetesen ez nem zárja ki, hogy olyan vizsgálatok történjenek, melyeknél a mérés előtt a vasoaktív terápiát elhagyják mind a baseline, mind a terápiás hatás megítélésére szolgáló vizsgálatnál, mint ahogy az a BANFF vizsgálatnál történt (1).

A másik szempont etikai. Mennyi ideig lehet egy kezelt betegnél a standard terápiát elhagyni? Megjegyzésként fontos, hogy nem tudjuk minden szerről, hogy milyen mértékben van hatással akut és krónikusan adva az FMD-re. Ez is a gyógyszerhatás-vizsgálatok alatt a bázisterápia fenntartása mellett szól.

A fentiek alól a tartós nitrátok, illetve a molsidomin kivétel, melyet az FMD vizsgálat alatt szükséges elhagyni.

Tekintettel arra, hogy a zsírdús étkezést leszámítva az étkezés nem változtatta szignifikánsan az FMD-t, az éhgyomri vizsgálat sem abszolút krité-

rium. Amennyiben nem éhgyomri a vizsgálat, szükséges a körülmények standardizálása (pl. könnyű reggeli után).

A vizsgálati idővel is hasonló a helyzet. Nem szükséges a reggeli időpont, de a gyógyszerhatás előtti és alatti FMD vizsgálatnak összemérhetőnek kell lennie a vizsgálati idő szempontjából is.

1.2 A vizsgálatához használt ECHO készülék

A készüléknek rendelkeznie kell lineáris fejjel, melynek frekvenciája 7> MHz. A készüléknek rendelkeznie kell az ECHO-kép mellett szinkron rögzített EKG-val. (3, 4) A vizsgálatot videokazettára szükséges rögzíteni. Az elemzést utólag kell elvégezni a felvételek analízisével. A vizsgálat közbeni mérések információvesztést eredményeznek.

1.3 Az artéria brachialis ábrázolása

Az artéria brachialisról a könykhajlat felett hosszmetzeti képet nyerünk.

Jó minőségű a kép akkor, ha a media-adventicia határt jelentő „m-vonal” mellett az intima is látszik egy párhuzamos csíkként. A vizsgálati hely azonosításában az anatómiai markerek segíthetnek (pl. véna, fascia lemez). A sztereotaxiás berendezések segíthetik a fej stabil pozícióban tartását, de ennek használatát nem tartjuk szükségesnek.

1.4 A leszorítás helye

A vizsgálatnál az alkart leszorítjuk vérnyomásmérő mandzsettával (melyet a szisztolés vérnyomás fölé 50 Hgmm-rel fújunk), majd bizonyos idő múlva a leszorítást hirtelen felengedjük (2).

A felengedését követően a leszorítástól distalisban elsősorban a rezisztencia erek tágulnak, mely miatt az artéria brachialisban az áramlás átmenetileg felgyorsul. A világon jelenleg nincs konszenzus a leszorítás helyét illetően. Magyarországi vizsgálok mindegyike

egyetért abban, hogy az alkar leszorítása a választandó módszer. Egyes vizsgálok az átmeneti kompressziót a mérés helye felett alkalmazzák. Ekkor viszont az FMD mérés ischaemiás területen történik, ahol az ér tónusának változását az endothel pillanatnyi állapota mellett az ischaemia okozta reakció is befolyásolja. Ha tisztán a meg-növekedett áramlás okozta reakciót akarjuk vizsgálni, a mérés helyétől distalisban alkalmazott kompresszió a választandó.

1.5 A leszorítás időtartama

Pontosan 4,5 perc. Egyes vizsgálok hosszabb leszorítási időt használnak. Tekintettel arra, hogy az első 5 percen belül a leszorítási idő növelése fokozza a dilatációt, a 4,5 perc pontos betartása szükséges.

1.6 Video rögzítés

A leszorítás előtt rögzíteni kell az artéria brachialis longitudinális metszetét és a centrális áramlást. A felengedés előtt legalább 10 sec-mal el kell kezdeni a rögzítést. A hyperaemia kezdetének pontos időpontját jelző áramlászokozódásnak a videoszalagon szükséges lennie. A felengedést követően célszerű folyamatos 3 perces rögzítés, melynek első 15 sec-a legyen az áramlás rögzítése.

A továbbiakban az artéria brachialis longitudinális ECHO képét kell rögzíteni. A centrális áramlás maximuma elegendő az inger nagyságának megítéléséhez, az artéria brachialisban átáramlott vérmennyiség származtatott számítása lehetséges.

1.7 Nitrát hatás vizsgálata

0,4 mg sublingualis nitrát hatása az endotheltől független maximális dilatáció megítélésére szolgál. A nitrát okozta dilatáció 3–4 percnél éri el maximumát. Itt a rögzítés a nitrát adást követő 2–6 perc között javasolt.

1.8 Zoom

A vizsgálat maximális zoommal történjen.

2. A vizsgálat kiértékelése

A vizsgálat értékelése mindig utólag, a videorögzítés elemzésével történjen. Első lépés a készülék kalibrálása a rögzített képen lévő távolság markerekhez. Fontos, hogy egy adott vizsgálat elemzése közben ne változtassunk kalibrációt, mert ez torzíja az eredményt.

2.1 A vizsgált ér átmérője

A vizsgálat 3–6 mm közötti nyugalmi artéria brachialis átmérőnél informatív. Az FMD vizsgálat kisebb átmérő mellett a nagy szórás, nagy átmérő mellett kórállapot nélkül is alacsony az FMD értéke. A video kalibrálása után az ér átmérőjének mérését manuális kijelöléssel végezzük. Egy adott pillanatban az ér átmérője a longitudinális metszet három különböző pontján történő mérés átlaga. Ez a ferde metszetek torzító hatását hivatott kiküszöbölni.

2.2 Az áramlás mérése

A hyperemia mértékének megítéléséhez elegendő a centrális áramlási sebesség meghatározása a vizsgálat elején nyugalomban és a felengedést követő hyperaemia alatt. Ebből származtatott adatok, például a másodpercenként átáramlott vérmennyiség, nem mondanak többet (6). Fontos, hogy a kiértékelésnél az összehasonlítható átmérők mérése közben ne mérjünk áramlást, és viszont. Ez ismételt kalibrációt tesz szükségessé, mely az eredmény torzulásához vezethet.

2.3 Az érátmérő mérésének ideje a felengedést követően

Főleg kóros állapotban a maximális dilatáció később következik be, mint egészséges személyeknél. A dilatáció eltérő dinamikája miatt a dilatáció megítélésakor felengedést követően eltelt időnek nagy jelentősége van. A standardizálására a következő módszerek használatosak:

- a 45–60 sec közti 3 legnagyobb érátmérő átlaga,
- 60 sec-nál mért érátmérő,

– a 180 sec-ig rögzített felvételen a maximális dilatáció értéke, függetlenül az időponttól.

Mind a három lehetőség használható akár külön, akár együttesen is.

2.4 Az érátmérő mérési ideje a szív cikluson belül

Eddigi adatok szerint a T szinkron mérés nem mond többet az R szinkron mérésnél, és nehezebben standardizálható. Emiatt az R-hullám szinkron mérést javasoljuk (4).

3. Személyi feltételek, training

A vizsgálatot gyakorlott személynek kell végeznie, aki legalább 100 vizsgálaton részt vett már. Emellett az évi 100 vizsgálat kívánatos a megfelelő gyakorlat fenntartásához. Egy adott centrumnak el kell végeznie a variabilitási és reprodukálhatósági vizsgálatokat.

4. Klinikai tanulmányok

Egy adott beavatkozás FMD-re gyakorolt hatásának megítélésekor célszerű kóros kiindulási FMD-vel rendelkező betegcsoportot a klinikai tanulmányba bevonni. A beválasztási kritériumnak $FMD < 5\%$ -ot javasoljuk (5).

Azon személyeket célszerű kihagyni a gyógyszerhatás vizsgálatból, kiknél a nitrát okozta dilatáció $< 5\%$. Ezen személyeknél az artéria brachialis compliance olyan mértékben csökkent, ami az FMD mérést nem teszi informatívvá.

A kiértékelést a tanulmány befejezését követően, két független értékelőnek centrálisan kell elvégeznie. Az értékelés vakon történjék, tehát az értékelők ne ismerjék az értékelt vizsgálati személy adatait, a felvétel körülményeit, idejét.

Amennyiben egy több centrumban végzett vizsgálat történik, a vizsgálat elkezdése előtt egy referencia centrum meghatározása szükséges. E referencia centrum feladata a centrumok gyakorlatának összehangolása, az előzetes minőségbiztosítás.

Egyebekben a nemzetközi guideline irányelveit tartjuk követendőnek (4). Jelen konszenzus elsősorban a nemzetközi ajánlás által le nem zárt kérdésekre keresett választ, illetve tett javaslatot a módszert Magyarországon használó vizsgálok egyetértésével.

Irodalom

1. Anderson, T. J. et al.: Comparative study of ACE inhibition, angiotensin II antagonist and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilatation in patients with Coronary disease. BANFF-study. J. Am. Coll. Cardiol., 2000; 35: 60–66.
2. Celermajer, D. S. et al.: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet, 1992; 340: 1111–15.
3. Corretti, M. C. et al.: Technical aspects of evaluating brachial artery vasodilatation using high-frequency ultrasound. Am. J. Physiol., 1995; 268 H1297–H1404.
4. Corretti, M. C. et al.: Guidelines for Ultrasound assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilatation of Brachial Artery. J. Am. Coll. Cardiol., 2002; 39(2): 257–65.
5. Nagy L. et al.: Effect of benazepril on endothelial function in previously untreated hypertensive patients. American Journal of Therapeutics, 1998. 5:233–236.
6. Nagy L. et al.: Effect of transfusion on the endothelium dependent dilatation of brachial artery in patients with chronic anemia. Clin. Hemorheol., 1999. 20:145–150.

Dr. Nagy Lajos

Vas Megyei Markusovszky Kórház
9700 Szombathely

III.

Noninvasive Assessment of Endothelial Dysfunction in Essential Hypertension: Comparison of the Forearm Microvascular Reactivity with Flow-mediated Dilatation of the Brachial Artery

Katalin Farkas, M.D., Emília Fábián, M.D., Endre Kolossváry, M.D., Zoltán Járαι, M.D., Ph.D.,
Csaba Farsang, M.D., D.Sc.

First Department of Internal Medicine, St. Imre Teaching Hospital, Budapest, Hungary

Abstract. Endothelial dysfunction is detectable both in the forearm skin microcirculation by laser Doppler flowmetry and in the brachial artery by Duplex Ultrasound. The aim of the study was to evaluate whether endothelium-dependent vasodilation in the forearm microcirculation is related to endothelium-dependent flow mediated dilation (FMD) of the brachial artery. In 22 treated male essential hypertensive patients (EHT) who had impaired FMD of the brachial artery, and in 11 male normotensive subjects (NT) we measured first the postocclusive reactive hyperemic response (PORH), then the effect of two doses of acetylcholine (ACh) and sodium nitroprusside (SNP) on the forearm skin microcirculation. FMD resulted from forearm reactive hyperemia induced by 5 minutes of ischaemia and the vasodilation induced by sublingual nitroglycerine (GTN) were also measured. Responses were calculated as the maximal percent increase above baseline. PORH and the responses to ACh were significantly ($p < 0.05$, $p < 0.01$) reduced in EHT (272 ± 180 , 177 ± 194 , 463 ± 302) as compared to NT (409 ± 123 , 470 ± 467 , 805 ± 603). Response to SNP was similar. FMD was significantly ($p < 0.001$) reduced in EHT as compared to NT (3.98 ± 2.2 vs 9.3 ± 2.88), while response to GTN was similar. There was no significant relationship ($p = \text{n.s.}$) either between maximal response to ACh and FMD ($r = 0.28$), or between PORH and FMD ($r = -0.01$). Endothelial dysfunction was detectable with both methods in EHT. Our results show that endothelium-dependent vasodilation in forearm microcirculation is not related to FMD of the brachial artery. This can be explained by the differences in vascular beds and mechanism involved in the hyperemic response.

Introduction

Results of scientific research in the last decades showed the importance of endothelial cells in the pathogenesis of atherosclerosis. Endothelium plays a central role in the regulation of vascular tone, platelet function, coagulation, and cell proliferation [1]. The endothelium is a primary target for injuries, such as hypertension, dyslipidaemia, diabetes mellitus, smoking and ischaemia. Basic and clinical research proved the dysfunction of endothelial cells in hypertensive subjects [2]. This, on one hand can have a role in the pathogenesis of hypertension, on the other hand it can be the result of elevated blood pressure, leading to vascular complications. There are invasive and non-invasive methods to measure endothelial function. These methods are to determine vasodilation after specific stimuli, or measure specific factors released by the endothelium [3].

The ultrasound assessment of brachial artery flow-mediated vasodilation (FMD) provides a noninvasive means for measuring endothelial function. The test is performed using either upper or lower arm blood pressure cuff arterial occlusion. This stimulus provokes the endothelium to release nitric oxide (NO) with subsequent vasodilation that can be imaged and quantitated as an index of vasomotor function [4]. To assess endothelium-independent vasodilation, an exogenous NO donor (nitroglycerin) is given to determine the maximum obtainable vasodilator response [5].

Laser Doppler flowmetry (LD) is a suitable method for the noninvasive study of skin microcirculation [6]. Iontophoresis coupled with laser Doppler flowmetry makes it possible to assess the real-time changes of the skin blood flow after the administration of different vasoactive substances without systemic effects. Acetylcholine (ACh) given into the skin by iontophoresis causes endothelium dependent vasodilation, which can be compared with the endothelium independent effect of sodium nitroprusside (SNP), an NO donor [7–9]. The postocclusive reactive

The study was supported by a grant of the Hungarian Scientific Council (OTKA T29420).

Correspondence to: Dr Katalin Farkas, St. Imre Teaching Hospital, Tétényi u.12-16, Budapest, 1115—Hungary

hyperemic response (PORH), mediated mainly by endothelium dependent factors, measurement by laser Doppler flowmetry can be as suitable for the assessment of endothelium dependent vasodilation as the flow-mediated vasodilation of the brachial artery, but on the level of capillaries and arterioles [10].

We investigated whether endothelium-dependent vasodilation in the forearm microcirculation is related to endothelium-dependent FMD of the brachial artery in essential hypertensive patients (EHT) and normotensive subjects (NT).

Patients and Methods

Patients and Subjects

The study population included 22 patients with essential hypertension (EHT group) and 11 normotensive control subjects (NT group). Patients and subjects older than 60 years, smokers or those with diabetes mellitus or with abnormally elevated (>6.5 mmol/l) cholesterol plasma levels were excluded. No patient was on nitrate treatment, and the antihypertensive therapy was unchanged for at least 6 months prior to the examination. EHT patients were screened for FMD of the brachial artery and only patients with FMD <5% were included. Subjects had a light breakfast 3 hours before the start of the measurements: first, the laser Doppler flowmetry, then the ultrasound examination. Informed consent was obtained from all patients and the study was approved by the local Ethics Committee. Subject characteristics are summarized in Table 1.

Experimental Protocol

Laser Doppler flowmetry

Measurements were carried out in a temperature-controlled room (24 ± 1°C) with the subjects lying in the supine position, after 20 minutes acclimatization period. Fifteen minutes before starting, the flexor aspect of the right forearm was gently cleaned using alcohol. We determined the blood pressure and pulse rate of the subjects.

A laser Doppler instrument and a micropharmacology system were used for noninvasive and continuous measurement of perfusion changes during vascular provocations in the skin. A drug delivery electrode was incorporated in the head of the laser probe. The probe temperature could be varied and was standardized to 32°C during drug tests. The current strength chosen for our study were well tolerated by the subjects. We have previously evaluated the effect of iontophoresis current itself on skin blood flow: practically no changes were induced by the same duration and strength of the electric current we used in the present study.

The drug delivery electrode was filled with 140 µl Acetylcholine 1% and was attached with the laser probe to the volar surface of the right forearm. The position of the probe was chosen in order to avoid hair, freckles and broken skin. The dispersive electrode was attached to the volar aspect of the wrist to complete the circuit. We placed a control standard probe 4 cm laterally from the drug delivery electrode. After registration of the baseline flow (60 s) two doses of ACh was delivered using an anodal current (0.1 mA for 30 s and 0.16 mA for 30 s) with a 120 s interval. With a new delivery electrode two doses of sodium nitroprusside 1% was delivered using a cathodal current (0.1 mA for 20 s and 0.1 mA for 30 s) with a 120 s interval.

During the PORH test after the registration of the baseline flow (60 s) arterial occlusion was performed with suprasystolic pressure by the help of a pneumatic cuff of a sphygmomanometer for 3 minutes (biological zero), after the release of the pressure we measured the skin hyperaemia on the volar surface of the left forearm 10 cms below the elbow with a standard laser Doppler probe. An other standard probe was put on the skin of the right forearm as a control.

Table 1. Characteristics of the subjects studied

	EHT	NT
N (number)	22	11
Age (years)	50.5 ± 6.9	41 ± 9*
Gender	male	male
Systolic blood pressure (mmHg)	141.2 ± 12.25	116.6 ± 10**
Diastolic blood pressure (mmHg)	85.8 ± 7.02	68.3 ± 5.59**
Duration of hypertension (years)	9.29 ± 9.6	—
Weight (kg)	88.4 ± 11.9	78.1 ± 11.7*
Blood fasting glucose (mmol/l)	5.36 ± 0.61	5.32 ± 1.01
Serum cholesterol (mmol/l)	5.28 ± 0.94	5.66 ± 1.07
Serum HDL-cholesterol (mmol/l)	1.23 ± 0.32	1.18 ± 0.26
Serum triglyceride (mmol/l)	1.76 ± 1	1.64 ± 0.98
Serum uric acid (µmol/l)	334 ± 72	324 ± 69

EHT = essential hypertensive patients; NT = normotensive subjects. Data are mean ± SD.
*p < 0.05.
**p < 0.001.

The LD signal is proportional to the number and velocity of moving blood cells in illuminated superficial skin microvessels. The laser beam penetrates the skin and it is partially backscattered by moving blood cells. According to the Doppler principle, a frequency shift occurs, generating a signal, that is linearly related to red cell flow, as predicted by theoretical and experimental models. The LD output is semiquantitative and expressed in PU of output voltage (1 PU = 10 mV) in accordance with general consensus (European Laser Doppler Users Groups, London, 1992). The LD outputs were recorded continuously by an interfaced computer with aquisition software. Calibration was performed by a device composed of colloidal latex particles, the Brownian motion of which provides the standard value. Because the output cannot easily be translated into absolute values of blood flow, the magnitude of the changes in skin perfusion was calculated as the ratio between peak and mean baseline perfusions.

The reproducibility of laser Doppler flowmetry has been studied in stable emulsion with an intra-assay coefficient of variation of about 6%. In humans, the technique shows a coefficient of variation of 20–21% [5,8]. At our laboratory, day-to-day reproducibility was 12–21%, determined in three subjects on three occasions.

Flow-Mediated Dilation

All patients were studied between 1 and 3 p.m. minimum 4 hours after the last meal. The patient lay supine in a quiet, temperature-controlled room (24 ± 1°C) for 10 minutes before the study with the right arm gently immobilized in extension. The diameter of the brachial artery was measured from 2D ultrasound images using a commercially available system. Images were recorded on an S-VHS tape. In each study, scans were taken at rest, during reactive hyperemia (FMD), at rest again and after the administration of sublingual nitrates (NMD). The brachial artery on the right arm was scanned in longitudinal section, 2 to 15 cm above the antecubital fossa. The settings were adjusted to optimize the lumen/arterial wall interface and held constant during testing. Measurements were taken from the anterior to the posterior “m” line at end diastole, incident with the R-wave on the electrocardiogram, at a fixed-distance from an anatomic marker, such as a bifurcation. Five cardiac cycles were analyzed for each scan and measurements were averaged. Following the baseline measurements a forearm cuff occlusion was obtained for 4.5 minutes below the elbow by inflation of pneumatic tourniquet to a pressure of 300 mmHg. The artery diameter were performed within one minute after cuff deflation during reactive hyperemia. Following 10 minutes of recovery phase, a resting scan was repeated. Sublingual nitrates (400 µg) were then administered. The last set of scans were performed 3 minutes after nitrate intake.

Table 2. Changes in skin blood flow in response to iontophoresis of acetylcholine

	EHT	NT
Baseline (PU)	8.25 ± 4.48	7.25 ± 4.5
PFACH1 (PU)	21.62 ± 13.27	37.26 ± 34.57
PFACH1% (%)	177 ± 202	470 ± 509**
PFACH2 (PU)	41.94 ± 29.71	61.00 ± 74.86
PFACH2% (%)	463 ± 241	805 ± 618*

EHT = essential hypertensive patients; NT = normotensive subjects; PFACH1 and PFACH2 = maximal skin blood flow after the first and second dose of acetylcholine in perfusion units; PFACH1% and PFACH2% = maximal skin blood flow % increase after the first and second dose of acetylcholine.
Data are median ± interquartile range.
**p* < 0.05.
***p* < 0.01.

Table 3. Changes in skin blood flow in response to iontophoresis of sodium nitroprusside

	EHT	NT
Baseline (PU)	7.60 ± 4.65	9.29 ± 8.09
PFSNP1 (PU)	33.19 ± 32.38	48.30 ± 61.34
PFSNP1% (%)	368 ± 431	440 ± 725
PFSNP2 (PU)	52.01 ± 42.43	76.21 ± 85.75
PFSNP2% (%)	641 ± 459	810 ± 877

EHT = essential hypertensive patients; NT = normotensive subjects; PFSNP1 and PFSNP2 = maximal skin blood flow after the first and second dose of sodium nitroprusside in perfusion units; PFSNP1% and PFSNP2% = maximal skin blood flow % increase after the first and second dose of sodium nitroprusside.
Data are median ± interquartile range.
No significant differences were found between EHT and NT.

Statistical Evaluation

All results are expressed as the median and interquartile range. According to the sample size nonparametric procedures were performed. Results were compared in hypertensive and control subjects by Mann-Whitney *U* test. Effect of iontophoresis and PORH tests were analyzed by Friedman ANOVA. Differences were considered as statistically significant when *p* < 0.05. Statistical analysis was performed by Statistica for Windows software.

Results

Laser Doppler Flowmetry

Basal forearm skin perfusion.

Basal forearm skin perfusion was not significantly different in the EHT patients compared with the control subjects.

Response to acetylcholine (Table 2)

Iontophoresis of ACh produced a significant dose-dependent increase in cutaneous blood flow both in EHT patients and control subjects, but the vasodilation to the

Table 4. Changes in skin blood flow in response to 3 minutes arterial occlusion (PORH)

	EHT	NT
Baseline (PU)	12.62 ± 9.47	8.88 ± 3.8
Peakflow (PU)	39.08 ± 29.98	44.33 ± 20.12
Peakflow% (%)	272 ± 221	409 ± 194**
Time to peakflow (sec)	9.23 ± 4.38	12.32 ± 4.65*

EHT = essential hypertensive patients; NT = normotensive subjects; Peakflow = maximal skin blood flow after the release of arterial occlusion; Peakflow% = maximal skin blood flow % increase after the release off arterial occlusion; Time to peakflow = the time from cuff release to maximal vasodilation.
Data are median ± interquartile range.
**p* < 0.05.
***p* < 0.01.

Table 5. Arteria brachialis FMD and NMD

	EHT	NT
FMD (%)	3.98 ± 2.4	9.3 ± 4.9*
NMD (%)	14.46 ± 6.59	18.21 ± 9.7

EHT = essential hypertensive patients; NT = normotensive subjects; FMD = flow mediated dilation; NMD = nitrate mediated dilation.
Data are mean ± SD.
**p* < 0.001.

two doses of ACh was significantly lower in the EHT group than in the NT group (*p* < 0.01, *p* < 0.05).

Response to sodium nitroprusside

Table 3 shows the responses of forearm skin perfusion to the iontophoresis of the two doses of SNP. The cutaneous blood flow increased significantly in both groups. The vasodilation to SNP was lower but not significantly different in the EHT group than in the NT group compared with the NT group.

Postocclusive reactive hyperemia (Table 4)

The three minute occlusion of the brachial artery by a pneumatic cuff produced a significant increase in the cutaneous blood flow after cuff release. The vasodilation was significantly lower in the EHT group than in the NT group (*p* < 0.01). Mean biological zero was not significantly different between the two groups.

Flow Mediated Dilation and Nitrate Mediated Dilation (Table 5)

The FMD of the brachial artery was significantly lower in the EHT group than in the NT group (*p* < 0.001). The NMD was lower but not significantly different in the EHT group compared with the NT group.

There was no significant relationship either between maximal response to ACh and FMD ($r = 0.28$), or between PORH and FMD ($r = 0.01$). No relation was found between response to SNP and GTN ($r = 0.31$).

Discussion

Our results demonstrate that in patients with impaired FMD of the brachial artery, essential hypertension is associated with endothelial dysfunction also in the skin microcirculation of the forearm. The lack of correlation between the two methods can be explained by the differences in vascular beds and mechanism involved in the hyperemic response.

In our previous study we found that microvascular vasodilatory responses to iontophoretically applied ACh and to the release of transient arterial occlusion are impaired in patients with essential hypertension [11]. Our group and others have used iontophoretic administration of ACh combined with laser Doppler flowmetry to measure microvascular endothelial function in a variety of major cardiovascular diseases, such as atherosclerosis, coronary heart disease, essential hypertension and diabetes [7]. ACh elicits vasodilation through a complex sequence of events: when applied to blood vessels, ACh binds to muscarinic receptors on the surface of endothelial cells, which activates specific G proteins, resulting in the production of NO from L-Arginine (catalysed by NO synthase). NO then diffuses across the intercellular gap, through the interstitial basement membrane and binds to the cytosolic guanylate cyclase of the smooth muscle cells. This induces a rise in cyclic guanosine monophosphate and consequently relaxation [12,13]. In addition to eliciting NO production ACh also stimulates the release of the vasodilators prostacyclin and the endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF). The relative contribution of these factors to cutaneous vasodilation is unclear. Morris et al. and Berghoff et al. demonstrated that prostanoid-dependent mechanisms do not contribute significantly to endothelium-dependent vasodilation in response to ACh [7,9], whereas Khan et al. and Noon et al. suggested that forearm cutaneous vasodilation is mediated mainly by prostanoid-dependent mechanism [14,15]. Another problem is the effect of current alone or the effect of drug vehicles. Transcutaneous electrical nerve stimulation has been utilized to stimulate axon reflex vasodilation in the skin, but this method, in contrast to most iontophoretic studies, uses painful stimuli. Abou-Elenin et al. demonstrated that NaCl solution as iontophoresis vehicle solution had a negligible vasodilatory effect [16] and we found the same at our laboratory.

The postocclusive reactive hyperemia is induced mainly by the shear stress, but vasodilator metabolite produced during the hypoxia can also contribute. Wilkin demonstrated that, in cutaneous reactive hyperemia, the peak hyperemic flow decreases with increasing durations of arterial occlusion, which is not consistent with changes in concentration of a hypothesized vasodilator metabolite produced during occlusion [17].

The flow-mediated dilation of the brachial artery is induced by the shear stress during flow increase and the principal mediator is endothelium-derived NO. The endothelial cell membrane contains specialized ion channels that open in response to shear stress [18]. The effect of potassium channel opening is to hyperpolarize the endothelial cell, increasing the driving force for calcium entry. Calcium activates the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and the subsequent generation of NO appears to account for FMD [4].

Both methods are noninvasive and allow repeated measurements, but need standardized circumstances and trained investigators. Findings in the skin microcirculation assessing endothelial function may correlate with those from other parts of the circulation. The amplitude of flow-mediated vasodilation of the brachial artery was found related to the change in coronary vascular tone induced by the intracoronary infusion of ACh [19], but we have no data concerning the relation of skin microcirculation and coronary vascular tone. The importance of differences in the endothelial dysfunction of different vascular beds need further investigation.

References

1. Quyyumi A (1998) Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease. *Am J Med* 105:32–39.
2. Lind L, Granstam S-L, Millgard J (2000) Endothelium-dependent vasodilatation in hypertension: a review. *Blood Pressure* 9:4–15.
3. Anderson TJ (1999) Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. *JACC* 34:631–638.
4. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuiller C, Luscher TF (1995) Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 91:1314–1319.
5. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM et al. (1992) Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 340:1111–1115.
6. Schabauer AM, Rooke TW (1994) Cutaneous laser Doppler flowmetry: applications and findings. *Mayo Clin Proc* 69:564–574.
7. Morris SJ, Shore AC, Tooke JE (1995) Responses of the skin microcirculation to acetylcholine and sodium nitroprusside in patients with NIDDM. *Diabetologia* 38:1337–1344.
8. Newton DJ, Khan F, Belch JF (2001) Assessment of microvascular endothelial function in human skin. *Clin Sci* 101:567–572.
9. Berghoff M, Kathpal M, Kilo S, Hilz MJ, Freeman R (2002) Vascular and neural mechanisms of ACh-mediated vasodilation in the forearm cutaneous microcirculation. *J Appl Physiol* 92:780–788.
10. Kubli S, Bernard W, Dalle-Ave A, Feihl F (2000) Reproducibility of laser Doppler imaging of skin blood flow as a tool to assess endothelial function. *J Cardiovasc Pharmacol* 36:640–648.
11. Farkas K, Kolossváry E, Járαι Z, Borvendég J, Farsang CS (2001) Noninvasive assessment of endothelial dysfunction in patients with essential hypertension by laser Doppler flowmetry. *Intern Angiol* (Suppl 1) 1:36.
12. Furchgott RF, Zawadzki JV (1980) The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288:373–376.
13. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S (1987) Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327:524–526.
14. Khan F, Davidson NC, Littleford RC, Litchfield SI, Struthers AD, Belch JFF (1997) Cutaneous vascular responses to acetylcholine are mediated by a prostanoid-dependent mechanism in man. *Vasc Med* 2:82–86.

15. Noon JP, Walker BR, Hand MF, Webb DJ (1998) Studies with iontophoretic administration of drugs to human vessels in vivo: Cholinergic vasodilation is mediated by dilator prostanoids rather than nitric oxide. *Br J Clin Pharmacol* 45:545–550.
16. Abou-Elenin K, Xydakis A, Hamdy O, Economides PA, Horton ES, Veves A (2002) The effect of aspirin and various iontophoresis solution vehicles on skin microvascular reactivity. *Microvascular Research* 63:91–95.
17. Wilkin JK (1987) Cutaneous reactive hypermia: viscoelasticity determines response. *J Invest Dermatol* 89:197–200.
18. Olesen SP, Clapham DE, Davies PF (1988) Haemodynamic shear stress activates a K⁺ current in endothelial cells. *Nature* 331:168–170.
19. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD (1995) Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 26:1235–1241.

IV.

Effect of *Simvastatin* on Endothelial Function in Cardiac Syndrome X Patients

Emília Fábián, MD, Albert Varga, MD, PhD, Eugenio Picano, MD, PhD, Zoltan Vajo, MD, PhD, Aladár Rónaszéki, MD, PhD, and Miklós Csanády, MD, DSc

Patients with cardiac syndrome X with mild hypercholesterolemia were randomized to placebo (n = 20) or simvastatin 20 mg/day (n = 20). In the simvastatin group, there was a significant (26%; $p < 0.0001$) decrease in total cholesterol, a 38% ($p < 0.0001$) decrease in low-density lipoprotein cholesterol levels, and 7% a ($p < 0.0001$) increase in high-density lipoprotein cholesterol levels, without significant changes in triglyceride levels. Brachial artery flow-mediated dilation increased significantly (52% relative increase, $p < 0.0001$), and the time to >1-mm ST-segment depression during stress testing was longer by the end of the study ($p < 0.0001$). ©2004 by Excerpta Medica, Inc.

(Am J Cardiol 2004;94:652–655)

The aim of our study was to assess the effect of long-term statin therapy on systemic endothelial function and exercise-induced ischemia in patients with cardiac syndrome X with mild hypercholesterolemia.

...

The patient population consisted of 40 prospectively enrolled patients with cardiac syndrome X with mild hypercholesterolemia (Table 1). The diagnosis of cardiac syndrome X was based on the presence of typical angina pectoris, transient >1-mm ST-segment depression during exercise stress testing, transient perfusion defect during myocardial perfusion scintigraphy, angiographically normal coronary arteries^{1,2} in the absence of coronary artery spasms (excluded by hyperventilation), left ventricular hypertrophy, and systemic hypertension. The patients underwent thallium scintigraphy and coronary angiography with hyperventilation testing for the exclusion of arteriospasm in a 1-year period before enrolling in the study. Myocardial perfusion scintigraphic results with transient perfusion defects were considered positive. Angiographic results with no wall irregularities visually were accepted as normal. Patients were eligible if they met the following inclusion criteria: normal coronary angiographic results, positive exercise electrocardiographic test results, positive myocardial perfusion scintigraphic results, normal regional and global left ventricular function at rest, and a mildly elevated total

TABLE 1 Baseline Characteristics

Variable	Placebo (n = 20)	Simvastatin (n = 20)
Age (yrs)	55.7 ± 1.05	55.0 ± 3.0
Men/women	13/7	12/8
Total cholesterol		
mmol/L	5.82 ± 0.13	5.86 ± 0.13
mg/dl	225.2 ± 5.0	226.7 ± 5.0
Low-density lipoprotein		
mmol/L	4.41 ± 0.17	4.47 ± 0.12
mg/dl	170.6 ± 6.5	172.9 ± 5.0
High-density lipoprotein		
mmol/L	0.96 ± 0.06	0.99 ± 0.05
mg/dl	37.1 ± 2.3	38.3 ± 1.9
Triglycerides		
mmol/L	2.14 ± 0.15	2.07 ± 0.09
mg/dl	187.2 ± 13.1	181.1 ± 7.8
Medication use		
Aspirin	20 (100%)	20 (100%)
Angiotensin-converting enzyme-inhibitors	0	0
Calcium channel blockers	17 (85%)	18 (90%)
β blockers	16 (80%)	15 (75%)
Nitrates	0	0

Data are presented as means ± SDs.

serum cholesterol level (>5.2 mmol/L). The exclusion criteria were previous myocardial infarction; valvular heart disease, including mitral valve prolapse, congestive heart failure, cardiomyopathy, sinus node dysfunction, or conduction disturbances (including left bundle branch block); diabetes mellitus; impaired renal or liver function; and smoking. All patients gave informed consent, and the Clinical Ethics Review Board of Semmelweis University Budapest approved the protocols. The investigation conformed to the principles outlined in the Declaration of Helsinki.

All patients received and were taught the American Heart Association step 2 diet and received antianginal treatment consisting of β blockers and/or calcium antagonists. None of them were on long-acting nitrate, nitric oxide-donor, trimetazidine, or angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy. Only sublingual nitrates were allowed for the relief of chest pain during the study. Medications were maintained throughout the entire study. Postmenopausal women were not on hormone replacement therapy.

Flow-mediated dilation (FMD) was assessed by measuring the change in brachial artery diameter in response to hyperemic flow by vascular ultrasound. The patients underwent standard exercise stress testing according to modified Bruce protocol. Patients were not allowed to take β blockers or sublingual nitrates 24 hours before the exercise stress tests and

From the Department of Cardiology, Elizabeth Hospital, Budapest, Hungary; the University of Sciences, 2nd Department of Medicine and Cardiology Center, Szeged, Hungary; and the Institute of Clinical Physiology, Pisa, Italy. Dr. Fábián's address is: Department of Cardiology, Elizabeth Hospital, Laborc u 48, 1037 Budapest, Hungary. E-mail: dr.fabian.emilia@ihklinika.hu. Manuscript received January 26, 2004; revised manuscript received and accepted May 11, 2004.

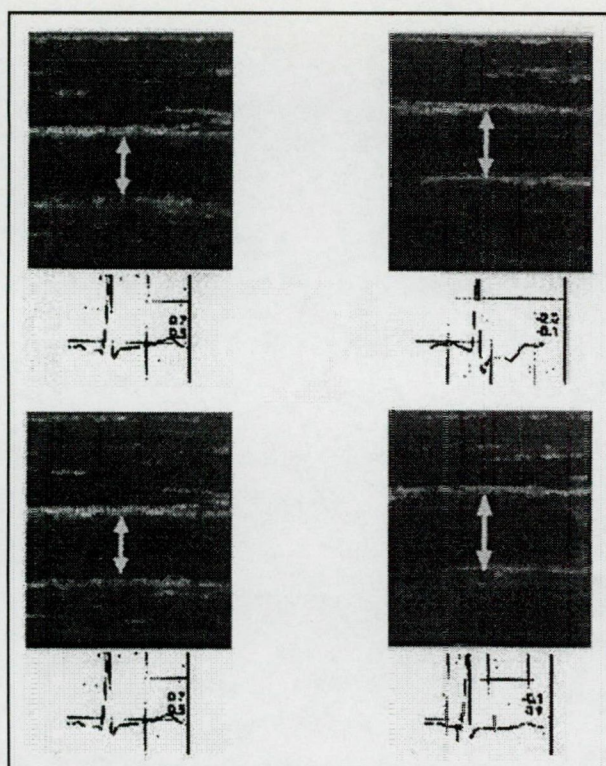


FIGURE 1. Changes in brachial artery diameters and exercise-induced ischemia before and after 12 weeks of simvastatin therapy. *Top 2 panels:* FMD and the exercise electrocardiogram before treatment. Significant ST depression in the V₅ lead and impaired response of the brachial artery to the forearm ischemia. *Bottom 2 panels:* the same patient after statin treatment, showing no change on the exercise electrocardiogram but a clear improvement of FMD.

the brachial vascular ultrasound examinations. After baseline measurements, the patients were randomized to placebo or simvastatin 20 mg/day at bedtime ($n = 20$) for a duration of 12 weeks. At the end of the study, the laboratory measurements, exercise electrocardiograms, and vascular ultrasound studies were repeated.

Blood samples were analyzed for total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, and triglycerides. Low-density lipoprotein cholesterol levels were determined by using the formula of Friedewald. The measurements were expressed in millimoles per liter.

The evaluation of endothelial function was performed according to the method described by Celermajer et al^{3,4} and as stated in the report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force.⁵ The diameter of the brachial artery was measured from 2-dimensional ultrasound images (Figure 1) using a commercially available system (SONOS 2000, 7.5-MHz probe, Hewlett-Packard Company, Palo Alto, California). Images were recorded on a Super Video Home System tape. The brachial artery on the dominant arm was scanned in longitudinal section, 2 to 15 cm above the antecubital fossa. Measurements were taken from the anterior to the posterior "m" line at end-diastole, incident with the R-wave on the electrocardiogram. After the baseline measurements, a forearm cuff occlusion was obtained for 4.5 minutes be-

low the elbow by the inflation of pneumatic tourniquet to a pressure of 300 mm Hg. The artery diameters were measured ≤ 1 minute after cuff deflation during reactive hyperemia. After 10 minutes of recovery, a scan at rest was performed. Sublingual nitrates (400 μ g) were then administered. The last set of scans was performed 3 minutes after nitrate intake. The maximum FMD and nitrate-mediated dilation diameter measurements were calculated as the average of the 3 consecutive maximum diameter measurements after hyperemia and isosorbide dinitrate, then the FMD and nitrate-mediated dilation were calculated as the percent change in diameter compared with baseline diameters at rest. The images were read independently by 2 separate observers blinded to the patients' identities and the study phase.

All patients performed a multistage treadmill test according to modified Bruce protocol. Blood pressure, heart rate, and 12-lead electrocardiograms were recorded at rest, at 1-minute intervals during exercise, at peak exercise, and for ≥ 5 minutes in the recovery phase. The electrocardiogram and the changes in the ST segment were continuously displayed and measured automatically by a computer-assisted system (Cardiovit AT-104 treadmill, Schiller AG, Baar, Switzerland) in all 12 leads. The achievement of age-specific target heart rate and the development of symptoms necessitating the termination of the test were taken as the end points of exercise stress testing. The appearance of downsloping or horizontal ST-segment depression >1 mm or 0.1 mV 0.08 seconds after the J point was taken as evidence of a positive exercise electrocardiographic test result. The time to >1 -mm ST-segment depression was defined.

The results are expressed as means \pm SDs. Comparisons were made using the paired-samples Student's t test when assessing the differences at randomization and at study end. To assess correlation between data, the Pearson correlation was used. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$ (2 sided).

Cholesterol levels were not statistically changed in the placebo group. Total serum cholesterol levels decreased significantly by 26% (5.86 ± 0.13 vs 4.63 ± 0.37 mmol/L, $p < 0.0001$) after 12 weeks of simvastatin treatment, and a 38% reduction in low-density lipoprotein levels occurred (4.47 ± 0.12 vs 3.22 ± 0.37 mmol/L, $p < 0.0001$). High-density lipoprotein levels increased significantly by 7% (0.99 ± 0.05 vs 1.05 ± 0.05 mmol/L, $p < 0.0001$) in the simvastatin group. There was a significant correlation between the decrease in the cholesterol level and the decrease in the low-density lipoprotein level ($r = 0.99$). Triglyceride levels were not significantly modified throughout the course of the study in the 2 groups (Figure 2).

Brachial artery FMD did not change significantly in the placebo group ($4.07 \pm 0.12\%$ vs $4.06 \pm 0.15\%$, $p = \text{NS}$) but increased significantly (52%) in the simvastatin group (4.01 ± 0.91 vs $6.12\% \pm 0.79\%$, $p < 0.0001$; Figure 3). Responses to nitroglycerin were similar during the time course of the study in the 2 groups. (Figure 3).

No significant differences were present in the time to >1 -mm ST-segment depression during stress test-

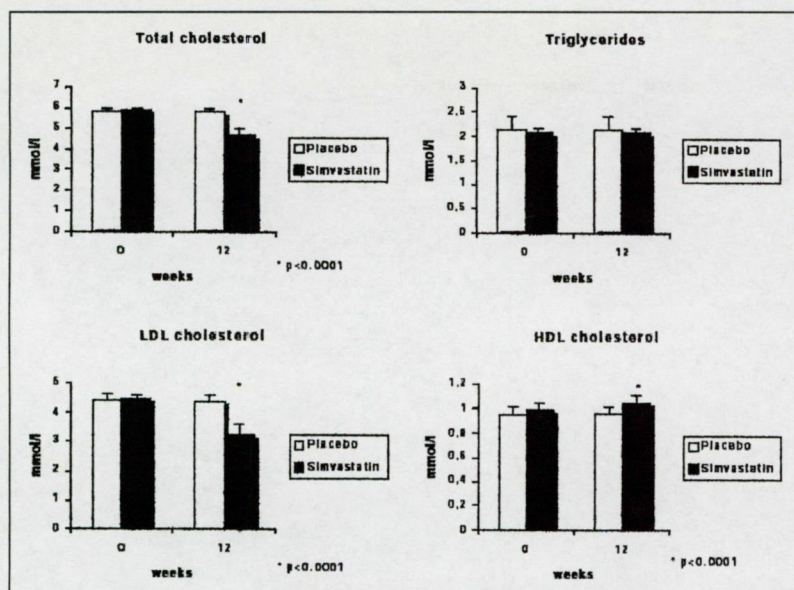


FIGURE 2. Changes in levels of lipid fractions at randomization to placebo (n = 20) or simvastatin (n = 20) at baseline and at study end. Total serum cholesterol (black bars) and low-density lipoprotein (LDL) (black bars) levels decreased ($p < 0.0001$), and high-density lipoprotein (HDL) levels (black bars) increased significantly ($p < 0.0001$) after simvastatin therapy. Cholesterol levels were not statistically changed in the placebo group (white bars) ($p = \text{NS}$). Triglyceride levels were not significantly modified throughout the course of the study in the 2 groups ($p = \text{NS}$).

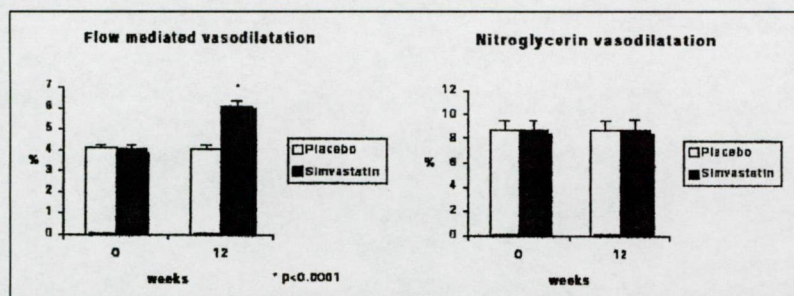


FIGURE 3. FMD was significantly better after simvastatin therapy (filled squares). In the placebo group (open squares), there was no impairment in endothelial function at study end ($p < 0.0001$). However, there were no significant differences in nitrate-mediated dilatation ($p = \text{NS}$) in the 2 groups.

ing after 12 weeks in the placebo group. It was significantly longer by the end of the study in the simvastatin group (4.45 ± 0.39 vs 5.33 ± 0.27 minutes, $p < 0.0001$). In 4 patients, no inducible ischemia could be detected during the stress test in the simvastatin group by the end of the study, and exercise was halted because the age-specific target heart rate was reached. All patients who had improvement in time to exercise-induced ST depression demonstrated an improvement in FMD. There was no significant correlation detected between the improvement in percentage FMD and the changes in electrocardiographic parameters, exercise capacity, and decrease in total and low-density lipoprotein cholesterol.

...

Our findings show that exercise-induced ST-segment depression with normal coronary arteries is associated

with impaired systemic endothelial function. To establish a cause-and-effect relation between these 2 different factors, it was important to document the possibility to reverse ST-segment depression by improving endothelial function with appropriate intervention therapy. This second approach has already been used in hypertensive patients with coronary microvascular disease by Viridis et al.⁶ Hypertensive patients with angiographically normal coronary arteries and dipyridamole-induced ST-segment depression had greater minimal forearm vascular resistance, as assessed by venous plethysmography and using intrabradial acetylcholine as an endothelium-dependent vasodilator. In addition, after 12 months of the administration of an angiotensin-converting enzyme inhibitor, forearm minimal vascular resistances were significantly reduced only in patients with electrocardiographic changes at study entry who showed the disappearance of stress-induced ST-segment depression.⁶ Our study is conceptually similar to that of Viridis et al.,⁶ despite the many methodologic differences in study design. They studied essentially hypertensive patients, whereas we enrolled hypercholesterolemic patients with normal coronary arteries. They used dipyridamole as an ischemic stressor, and we employed exercise.⁶ Their intervention therapy was obviously different, consisting of an angiotensin-converting enzyme inhibitor for 12 weeks,⁶ whereas we used a statin for 12 weeks. The endothelial function was also assessed with different methods: venous plethysmography in the study by Viridis et al.⁶ and high-frequency brachial ultrasound in the present study. However, despite the

many methodologic differences, the results of the 2 studies are convergent in pointing out that exercise-induced ST-segment depression is not an innocent finding, because it is associated with true systemic endothelial dysfunction and that it can be reversed with appropriate interventions targeted at the most likely underlying causative factor.⁷⁻¹¹

1. Kemp GH. Left ventricular function in patients with angina syndrome and normal coronary arteriograms. *Am J Cardiol* 1973;32:375-376.
2. Cannon RO, Camici PG, Epstein SE. Pathophysiological dilemma of syndrome X. *Circulation* 1992;85:883-892.
3. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-1115.
4. Raitakari OT, Celermajer DS. Flow-mediated dilatation. *Br J Clin Pharmacol* 2000;50:397-404.

5. Coretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermayer DS, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilatation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:257–265.

6. Virdis A, Ghiadoni L, Lucarini R, Di Legge V, Taddei S, Salvetti A. Presence of cardiovascular structural changes in essential hypertensive patients with coronary microvascular disease and effects of long-term treatment. *Am J Hypertens* 1996;9:361–369.

7. Bellamy MF, Goodfellow J, Tweddel AC, Dunstan FDJ, Lewis MJ, Henderson AH. Syndrome X and endothelial dysfunction. *Cardiovasc Res* 1998;40:410–417.

8. Vrints CJ, Bult H, Hitter E, Herman AG, Snoeck JP. Impaired endothelium dependent coronary vasodilatation in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:21–31.

9. Motz W, Vogt M, Rabenau O, Scheler S, Luckhoff A, Strauer BE. Evidence of endothelial dysfunction in coronary resistance vessels in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms. *Am J Cardiol* 1991;68:996–1003.

10. Zhang X, Zhao SP, Li XP, Gao M, Zhou QC. Endothelium-dependent and -independent functions are impaired in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2000;149:19–24.

11. Botker HE, Sonne HS, Sorensen KE. Frequency of systemic microvascular dysfunction in syndrome X and in variant angina. *Am J Cardiol* 1996;78:182–186.

Prevalence and Determinants of Breast Arterial Calcium in Women at High Risk of Cardiovascular Disease

Angela H. E. M. Maas, MD, Yvonne T. van der Schouw, PhD,
Willem P. Th. M. Mali, MD, PhD, and Yolanda van der Graaf, MD, PhD

Calcium deposits in breast arteries are commonly seen on mammograms, and their frequency increases with age, especially after menopause. The investigators studied the prevalence of breast arterial calcium in 600 women at high risk for cardiovascular events and assessed whether classic cardiovascular risk factors are independent determinants of these calcifications. ©2004 by Excerpta Medica, Inc. (Am J Cardiol 2004;94:655–659)

Breast cancer screening programs may offer a new way to identify women at high risk for cardiovascular events; these program have the advantage of already running in many Western countries. Accumulating evidence suggests that the presence of breast arterial calcium (BAC) on mammograms may serve as a marker for generalized vascular disease.^{1,2} In a large, cross-sectional study involving 12,239 women aged 50 to 69 years who participated in a breast cancer screening program, we found a prevalence of BAC of 9%, with a significantly greater prevalence of 15.4% in diabetic subjects.^{2–5} At follow-up, overall mortality was significantly greater in women with BAC (odds ratio [OR] 1.29, 95% confidence interval [CI] 1.06 to 1.58) than in women without BAC, with an excess mortality in diabetic women of 74% (OR 1.74, 95% CI 1.19 to 2.56). However, to date, it has not been established to what extent the various determinants of cardiovascular risk contribute to the presence of these calcifications. We analyzed the mammograms of 600

TABLE 1 RUTH Trial Inclusion Criteria (≥4 points for inclusion)*	
Criterion	Points
Myocardial infarction (MI) 3–36 mo before randomization	4
Angina pectoris with documented coronary disease on angiogram	4
Coronary angioplasty 6–36 mo before randomization	4
Coronary bypass 3–36 mo before randomization	4
Lower extremity arterial disease, documented by symptoms, or ankle/brachial index <0.9, revascularization or nontraumatic amputation	4
Current smoker and hypertension and hyperlipidemia	4
Diabetes mellitus (fasting glucose >140 mg/dl or on medication)	3
MI >36 mo before randomization	2
Coronary angioplasty >36 mo before randomization	2
Coronary bypass >36 mo before randomization	2
Age ≥70 yrs	2
Age >65 yrs and <70 yrs	1
Current smoker by self-report (≥10 cigarettes for 6 mo before enrollment)	1
Systolic blood pressure >160 mm Hg or diastolic blood pressure >95 mm Hg or on medication	1
Low-density lipoprotein cholesterol >160 mg/dl or high-density lipoprotein cholesterol >45 mg/dl with triglycerides >250 mg/dl or on medication)	1

*Adapted from Mosca et al.⁶

From the Department of Cardiology, Isala Klinieken, Zwolle and the Julius Center for Health Sciences and Primary Care and the Department of Radiology, University Medical Center Utrecht, Utrecht, The Netherlands. This study was financially supported by research grant 2100.086 of ZonMw (The Netherlands Organization for Health Research and Development), The Hague, The Netherlands. Dr. Maas's address is: Isala Klinieken, Department of Cardiology, Dr. van Heesweg 2, 8025 AB Zwolle, The Netherlands. E-mail: a.maas@diagram-zwolle.nl. Manuscript received February 20, 2004; revised manuscript received and accepted May 6, 2004.

participants included in the high-risk cohort of the Raloxifene Use for the Heart (RUTH) study.

...
The 610 participants of the Dutch subset of patients from the RUTH study were included in this cross-sectional study. The RUTH trial began 1998 and is a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial involving women from 26 countries. Its aim is to evaluate treatment with raloxifene 60 mg versus placebo in 10,101 postmenopausal

V.

Carvedilol és metoprolol vérnyomáscsökkentő és endothelfunkcióra kifejtett hatásának összehasonlítása hipertóniás, 2-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegeken

Nagy Lajos¹,
Fábián Emília²,
Kovács Imre¹

¹Vas Megye és Szombathely
MJV Markusovszky Kórház,
Egyetemi Oktató Kórház
Kardiológiai

és Belgyógyászati Osztály,
Szombathely

²Erzsébet Kórház,
Kardiológiai Osztály,
Budapest

Vizsgálat célja: carvedilol és metoprolol-szukcinát vérnyomáscsökkentő és endothelfunkcióra kifejtett hatásának összehasonlítása. **Betegek és módszer:** a vizsgálat két centrumában összesen 36 rendezett szénhidrát-anyagcserejű 2-es típusú diabéteszes, enyhe és középsúlyos hipertóniában szenvedő beteget vontunk be, akiknél az endothelfunkció károsodott volt. A betegeknél a vizsgálatba vételkor random módon $2 \times 12,5$ mg carvedilol ($n=19$) vagy 50 mg metoprolol-szukcinát ($n=17$) került beállításra, amely szerek dózisát 4 hét múlva emeltük, amennyiben a beteg nem érte el a 130/80 Hgmm célvérnyomást. A betegek endothelfunkcióját az alapvizsgálatkor (W_0) és a záróvizsgálatkor (W_{12}) ítéltük meg. **Eredmények:** a 12 hetes carvedilol és metoprolol kezelés egyaránt szignifikáns módon ($p<0,01$) csökkentette a szívfrekvenciát és a vérnyomást. (Carvedilol W_0 : $85,1 \pm 11,4/\text{min}$, $153,7 \pm 9,0/96,8 \pm 5,7$ Hgmm; W_{12} : $70,8 \pm 7,3/\text{min}$, $133,6 \pm 7,6/81,6/5,3$ Hgmm; Metoprolol W_0 : $91,7 \pm 9,9/\text{min}$, $151,3 \pm 6,8/94,7 \pm 5,9$ Hgmm; W_{12} : $73,5 \pm 9,3/\text{min}$, $133,2 \pm 4,9/82,1/2,9$ Hgmm). A két szer közül a 12 hetes carvedilol kezelés szignifikáns mértékben ($p=0,0001$) emelte az FMD értékét (W_0 : $2,72 \pm 1,11\%$; W_{12} : $5,50 \pm 2,28\%$), a metoprolol hatása ezzel ellentétben nem volt szignifikáns ($p=0,0523$) (W_0 : $3,42 \pm 0,89\%$; W_{12} : $3,99 \pm 1,18\%$). **Következtetések:** kóros endothelfunkciójú hipertóniás 2-es típusú diabéteszes betegeknél 12 hetes carvedilol kezelés szignifikánsan javította az FMD értékét, 12 hetes metoprolol-szukcinát kezelés esetén az FMD-érték nem változott szignifikáns mértékben. A két szer vérnyomás és szívfrekvencia csökkentő hatása között nem volt szignifikáns különbség, tehát az endothelfunkció javító hatása carvedilol egyéb hatásainak tulajdonítható.

Comparing effect of carvedilol and metoprolol on blood pressure and endothelial function in patients with hypertension and diabetes mellitus type 2. The aim of present study was to compare the effect of carvedilol and metoprolol succinate on blood pressure endothelial function. **Patients and methods:** 36 patients with well treated type 2 diabetes mellitus and mild or moderate hypertension were studied in two centres. All patients had impaired endothelial function. The patients were randomised to either 2×12.5 mg carvedilol ($n=19$) or 50 mg metoprolol succinate ($n=17$). The dose of study drug was increased after 4 weeks if the patient has not reached the 130/80 mmHg target blood pressure. Endothelial function was evaluated at baseline visit (W_0) and final visit (W_{12}). **Results:** BP and HR significantly decreased ($p<0.01$) in both treatment groups during the 12 week study period (carvedilol W_0 : $85.1 \pm 11.4/\text{min}$, $153.7 \pm 9.0/96.8 \pm 5.7$ mmHg; W_{12} : $70.8 \pm 7.3/\text{min}$, $133.6 \pm 7.6/81.6/5.3$ mmHg; metoprolol succinate W_0 : $91.7 \pm 9.9/\text{min}$, $151.3 \pm 6.8/94.7 \pm 5.9$ mmHg; W_{12} : $73.5 \pm 9.3/\text{min}$, $133.2 \pm 4.9/82.1/2.9$ mmHg). FMD in carvedilol group increased significantly (W_0 : $2.72 \pm 1.11\%$, W_{12} : $5.50 \pm 2.28\%$, $p=0.0001$) whereas in metoprolol group did not change ($3.42 \pm 0.89\%$, W_{12} : $3.99 \pm 1.18\%$ $p=0.0523$). **Conclusions:** 12 week long carvedilol treatment significantly improved endothelial function in patients with hypertension and type 2 diabetes mellitus, but the effect of metoprolol succinate was not significant. There was no difference in HR and BP lowering effect of two drugs. The favourable effect of carvedilol could be attributed to its other effects.

Kulcsszavak:

endothelium, hipertónia, diabetes mellitus, béta-blokkoló

Keywords:

endothelium, diabetes mellitus, hypertension, beta-blocker

Nagy és mtsai.: Carvedilol és metoprolol összehasonlító vizsgálata

Az endothelsejtek fontos szerepet játszanak az ér-fal fiziológiás funkciójának fenntartásában. (1). A vaszkuláris endothel különféle ingerek hatására termelt faktorok kibocsátása révén szabályozza a vazotónust, a véralvadást, az érfalban zajló gyulladásos és trófikus folyamatokat (2, 3). A legtöbbet tanulmányozott és vélhetőleg legfontosabb ilyen faktor a nitrogén-monoxid (NO), amely a vaszkuláris simaizomsejtek dilatációján túl gátolja a simaizomsejtek proliferációját, a trombocitaaggregációt, illetve gátolja a trombociták endothelsejtekhez történő kitapadását (4). Az endothelium funkció megítélésére több módszer használható, amelyek a vazotónust, a gyulladásos folyamatokat, a véralvadást és a trófikus folyamatokat tükrözve következtetnek az endothelfunkcióra. Az endothelfunkció helyett vaszkuláris funkciót is lehet használni, hiszen a fenti folyamatokban az érfali endotheliumon kívül az érfal más elemei is szerepet játszanak. A klinikai kutatásban leggyakrabban az arteria brachialis áramlásfüggő vazodilatációjának ultrahang általi mérését (FMD) használják az endothelfunkció megítélésére. Emellett több laborparaméter is jellemzi az endothelfunkciót, melyek közül az adhézions molekulák, a von Willebrand faktor, a szöveti plazminogén aktivátor (tPA), annak inhibitora (PAI-1), a redox kapacitás megítélésének módszerei emelhetők ki a teljesség igénye nélkül.

Az endothel-diszfunkció szisztémás folyamat, mely az ateroszklerózis ismert rizikófaktorai, mint a hypercholesterinaemia, hipertónia, diabetes mellitus, fennállása esetén, illetve az ateroszklerózisban szenvedő egyéneknél is kimutatható (5–8). Ezen rizikófaktorok többnyire egyszerre vannak jelen, és együtthatásuk hatványozottan hajlamosít kardiovaszkuláris betegségre (9).

A vérnyomás csökkentése nem elegendő az endothelium működésének javításához. Az a specifikus hatás, amely a vérnyomás csökkentésén túl az endothelfunkciót is javítja csupán néhány gyógyszercsoport sajátja (10, 11).

Vizsgálatunk célja az α -blokkoló tulajdonsággal is rendelkező, non-szelektív β -receptor-blokkoló carvedilol (Talliton®) és a β_1 -szelektív receptorblokkoló metoprolol-szukcinát (Betaloc Zok®) kezelés vérnyomáscsökkentő és endothelfunkcióra kifejtett hatásának összehasonlítása hipertóniás, 2-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegekben.

Betegek és módszerek

A vizsgálat két centrumában 36 nem inzulindependens diabeteses, enyhe vagy középsúlyos hipertóniában (szisztolés vérnyomás 130–180 Hgmm, diasztolés vérnyomás 85–110 Hgmm ismételt mérések során) szenvedő beteget vontunk be a következő beválasztá-

si kritériumok alapján: egyensúlyban lévő szénhidrátháztartást eredményező diéta vagy fél éve változatlan per os antidiabetikus kezelés (hemoglobin- A_{1c} <7%), fél éve változatlan antihipertenzív kezelés (enalapril, Ca-antagonista, centrális és perifériás vazodilatátor, diuretikum), össz-koleszterin <6,5 mmol/l, LDL-koleszterin <3,4 mmol/l, triglicerid <2,3 mmol/l, illetve az arteria brachialis vaszkuláris ultrahanggal mért, endothel-diszfunkciót igazoló, kóros endothelfüggő dilatációja (FMD) (<5%). Kizárási kritérium volt a korábban lezajlott miokardiális infarktus és instabil angina, a szekunder hipertónia, az igazolt perifériás érbetegség, a vese- és májelégtelenség (normálérték kétszeresét meghaladó paraméterek), β -blokkoló kezelés bevezetésének kontraindikációja, az indokolt nitrát és lipidcsökkentő kezelés, ismert nitrátintolerancia, dohányzás, fogamzóképes kor antikoncipienst nem szedő nőkben.

A prospektív, nyílt, randomizált, többközpontú vizsgálatba bevont betegek a vizsgálatba, előzetes felvilágosítás után, írásban beleegyeztek. A vizsgálati protokollt a Regionális Kutatásetikai Bizottság előzetesen jóváhagyta.

Azon betegek kerültek bevonásra, akik a randomizálás előtt egy héttel végzett szűrő (W_{-1}) vizit és a bevonási (W_0) vizit alkalmával egyaránt megfeleltek, a fenti beválasztási és kizárási kritériumok alapján.

A betegek a bevonáskor (W_0) randomizáltan két csoportba kerültek. Az I. csoportnál $2 \times 12,5$ mg carvedilol ($n=19$), a II. csoportnál 50 mg metoprolol-szukcinát ($n=17$) lett beállítva, az addig alkalmazott terápia mellé, vérnyomáscsökkentő indikációval.

Bevonáskor (W_0) és a 12 hetes kezelést követően (W_{12}) a HbA_{1c}, szérum glükóz, összkoleszterin, LDL-koleszterin, HDL-koleszterin, triglicerid, májenzimek, kreatinin, t-PA, PAI-1 és VCAM-1 meghatározását végeztük, illetve az arteria brachialis vazodilatációja alapján értékeltük az endothelfunkciót. A betegeket a 12 hetes kezelés során 4 hetente ellenőriztük, amikor az anamnézis, a rutin fizikális vizsgálat, vérnyomás, EKG mellett a mellékhatások jelentkezését, kísérőbetegségek állapotát ellenőriztük, illetve minden viziten rögzítettünk. Ha a betegek nem érték el a 130/80 Hgmm célvérnyomást, a vizsgálati gyógyszerek dózisát megdupláztuk. A vizsgálat végén az I. csoport betegei átlagosan 35,5 mg/nap carvedilolt, a II. csoport betegei átlagosan 67,6 mg metoprolol-szukcinátot szedtek. A beválasztást megelőzően bevezetett egyéb gyógyszerek dózisa a vizsgálat időtartama alatt változatlan maradt. A menopauzában lévő nőbetegek nem kaptak hormonkezelést.

A vérnyomást és a pulzust 10 min pihenés után ülő helyzetben mértük.

Az endothelfunkciót Celermayer módszere (12), a nemzetközi (13) és a magyarországi konszenzus (14)

Nagy és mtsai.: Carvedilol és metoprolol összehasonlító vizsgálata

1. táblázat. Az I. csoport és a II. csoport betegeinek jellemzői a randomizációnál (W_0) (az értékek átlag±szórás formában vannak feltüntetve). Egyik paraméter esetében sincs a két csoport között szignifikáns különbség ($p>0,05$ minden esetben).

	I. csoport carvedilol	II. csoport metoprolol
Betegszám	19	17
Nő/férfi arány	9/10	7/10
Életkor (év)	56,3±6,4	56,6±7,9
Hipertónia	8,6±7,9	6,2±6,7
fennállása (év)		
Diabétesz	5,0±4,1	3,8±4,9
fennállása (év)		
Szisztolés tenzió	153,7±9,0	151,3±6,8
(Hgmm)		
Diasztolés tenzió	96,8±5,7	94,7±5,9
(Hgmm)		
Szívfrekvencia	85,1±11,4	91,7±9,9
(l/min)		
FMD (%)	2,72±1,11	3,42±0,89

ajánlása alapján vizsgáltuk a W_{-1} , W_0 és W_{12} vizitek alkalmazásával. Az endothelfüggő vazodilatációt (FMD) az arteria brachialis áramlás fokozásával kiváltott érátmérő változása alapján határoztuk meg. A vizsgálatokat 12.00–15.00 óra között, minimum 4 órával az utolsó étkezést követően végeztük. Hewlett Packard SONOS 2000 ultrahangkészülékhez csatlakoztatott 7,5 MHz-es transzducert alkalmaztunk. A vizsgálat előtt a betegek 10 percet hanyatt fekvve pihentek a 20–25 °C hőmérsékletű vizsgálohelyiségben. Az a. brachialis átmérőjét 2D-módban longitudinális metszetben, a jobb, vagy bal felkaron, fix távolságra egy anatómiai markertől, pl. a bifurkációtól, 2–15 cm-rel a könyökhajlat felett vizsgáltuk. Az anterior „m” vonal és a poszterior „m” vonal közötti távolságot végdiasztolében, EKG-kapuzással mértük. 5 szív ciklust elemeztünk, majd a méréseket átlagoltuk. Az artériában mérhető áramlási sebességet 70° szögben pozícionált Doppler jellel mértük. A felvételeket nyugalomban, a reaktív hyperaemia alatt, ismét nyugalomban, végül

szublingvális nitrát alkalmazását követően készítettük. Az alpmérések után a vérnyomásmérő mandzsettáját a könyökhajlat alá helyeztük, a mandzsettát 300 Hgmm fölé fújtuk, s az alkart 4,5 percre leszorítottuk. A felengedést követő 45 és 120 sec intervallumban ismét rögzítettük az érátmérőt. Az ér eredeti állapotába való visszatéréséhez szükséges 10 percnyi nyugalmi állapot után szublingvális nitrátot adtunk, majd 3 perc múlva végeztük az utolsó méréseket a nitrát-mediálta dilatáció alatt (NMD). A maximális FMD- és NMD-átmérők mm-ben kifejezett értékeit a három legnagyobb értéket adó mérésből átlagoltuk, majd kiszámoltuk az alpméréshez viszonyított százalékban kifejezett értékeket. A videofelvételeket két független vizsgáló értékelte.

A statisztikai számításokat független statisztikus végezte. Az adatok átlag±szórás formátumban vannak feltüntetve. A statisztikai számításoknál a populációs adatok összehasonlításánál kétmintás t-próbát használtunk. A készítmények közötti összehasonlítás folyamatos adatok esetén (vérnyomás, szívfrekvencia) ANOVA-módszerrel történt, az endothelfunkciók összehasonlításánál a nemparaméteres eljárást használtuk. Az eltéréseket, amennyiben a p-értéket külön nem tüntettük fel, $p<0,05$ -nél tekintettük szignifikánsnak.

A vizsgálatot az EGIS Gyógyszergyár Rt. szponzorálta.

Eredmények

A betegek jellemzőit a randomizációs vizitnél az 1. táblázat tünteti fel. Látható, hogy a két csoport között nem volt szignifikáns különbség a klinikai paraméterek tekintetében.

A vérnyomás- és a pulzusértékek alakulását az 1–3. ábra tünteti fel.

Az 1–3. ábrákból látható, hogy a kezelés alatt mindkét vizsgálati csoportban szignifikáns módon csökkent mind a szisztolés, mind a diasztolés vérnyomás, valamint a szívfrekvencia is. A két csoport között nem volt szignifikáns különbség sem a kiindulási értékek, sem a kezelés alatti csökkenések mértéke tekintetében.

2. táblázat. FMD-értékek alakulása a vizsgálat során (A ** a W_0 értékhez képest $p<0,0001$ szignifikancia-szintet jelez)

	Carvedilol			Metoprolol		
Vizsgálati időpontok	Érátmérő (mm)	FMD %	NMD %	Baseline (mm)	FMD %	NMD %
Előválogatás (W_{-1})	4,33±0,59	2,71±1,12	13,61±5,38	4,57±0,55	3,41±0,97	5,13±0,60
Beválasztás (W_0)	4,30±0,61	2,72±1,11	13,35±4,41	4,56±0,56	3,42±0,89	5,14±0,60
Zárvizit (W_{12})	4,32±0,62	5,50±2,28**	13,31±3,14	4,57±0,54	3,99±1,18	5,15±0,67

3. táblázat. 12 hetes carvedilol és metoprolol kezelés hatása a szénhidrátr-, lipidanyagcserét és az endothelfunkciót jellemző laboratóriumi értékekre

Paraméter	Carvedilol I. csoport				Metoprolol II. csoport				Két csoport W ₁₂ Össze- hasonlítás	
	N	W ₀	N	W ₁₂	P	N	W ₀	W ₁₂	P	P
HbA _{1c}	19	6,41±0,6	19	6,73±1,12	0,5421	17	6,44±0,55	6,81±1,35	0,4326	0,5159
Éhomi vércukor	19	7,15±1,93	19	7,35±2,57	0,7172	17	6,78±1,34	6,75±1,44	0,9057	0,7998
Összkoleszterin	19	5,24±0,89	19	5,25±0,89	0,5227	17	5,34±0,73	5,18±1,11	0,4326	0,8466
LDL-koleszterin	18	3,02±0,84	19	3,11±0,66	0,9622	17	3,14±0,68	2,99±0,83	0,5509	0,6258
HDL-koleszterin	19	1,33±0,36	19	1,26±0,26	0,3626	17	1,24±0,35	1,31±0,44	0,9443	0,692
Triglicerid	19	1,69±0,45	19	1,72±0,68	0,8871	17	1,76±0,52	1,71±0,69	0,9382	0,8368
t-PA	16	55,27±24,24	16	53,51±18,13	0,5694	12	71,81±17,89	59,75±21,82	0,0712	0,4157
PAI-1	16	248,44±149,69	16	220,44±129,91	0,3011	12	290,02±164,07	271,51±148,31	0,5303	0,3415
sVCAM-I	16	384,36±138,47	16	383,63±116,81	0,8767	12	357,56±94,33	371,22±80,82	0,5302	0,7553

Az endothelfunkciót jelző áramlásfüggő dilatáció (FMD) értékeket a 2. táblázatban tüntettük fel. A táblázatból látható, hogy az egy hetes különbséggel elvégzett szűrő (W₁) és randomizációs (W₀) viziteknél az FMD-értékek között különbség nem volt, mely a módszer reprodukálhatóságát jelzi a vizsgált betegcsoportban. Ugyancsak megfigyelhető, hogy a 12 hetes carvedilol kezelés szignifikáns módon növelte a kezelés kezdetekor kóros FMD értékét, míg a metoprolol kezelés nem változtatta meg szignifikáns módon ezt az endothelfunkciót jelző paramétert. Az endotheltől független nitrát indukálta dilatációt (NMD) egyik vizsgálati szer sem befolyásolta.

A carvedilol és a metoprolol kezelés FMD-re gyakorolt hatását a 4. ábrán hasonlítottuk össze. A 12 hetes carvedilol kezelés a 12 hetes metoprolol kezeléshez képest szignifikánsan nagyobb mértékben javította az FMD-értéket, azaz a két készítmény endothelfunkcióra gyakorolt hatása közötti különbség szignifikáns. A szénhidrátr- és zsíryanagcserét jellemző paraméterekre egyik szer sem volt szignifikáns hatással a 12 hetes kezelés alatt (3. táblázat). Ugyancsak nem volt különbség e tekintetben a két szer hatása között.

Az endothelfunkciót jelző laborparaméterek tekintetében sem volt a két készítmény között szignifikáns különbség (3. táblázat), bár a carvedilol csoportban a tendenciák kedvezőbbek.

A vizsgálat során mindkét csoportban egy-egy betegnél jelentkezett gasztrointesztinális mellékhatás. Az I. csoportban ez 2 hét alatt megszűnt, a vizsgálatot a beteg befejezte. A II. csoportban a mellékhatás szintén enyhe lefolyású volt, de a beteg a vizsgálatot nem kívánta folytatni, így a beteg a randomizáció után négy héttel kivonásra került.

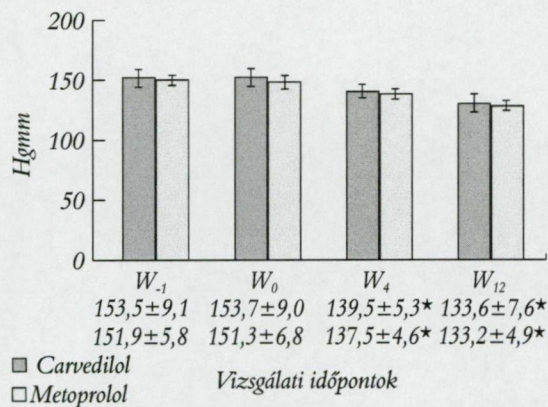
Megbeszélés

Az endothelfunkció megítélése több módszerrel lehetséges. Jelen vizsgálatunkban két vizsgálati szer endothelfunkcióra kifejtett hatásának megítéléséhez két különböző módszert használtunk. Elsődleges vizsgálati paraméter az FMD-változás volt, amely a vaszkuláris tónusra kifejtett endothelhatás jellemzője. A másodlagos paraméterek az endothel fibrinolízisre és a VCAM-1 koncentrációra kifejtett hatásának laboratóriumi megítélése voltak.

Legjobb tudomásunk szerint jelen tanulmány az első olyan humán klinikai vizsgálat, mely direkt módon hasonlította össze a szelektív béta₁-receptor-blokkoló metoprolol-szukcinát és a nem szelektív béta-blokkoló hatás mellett alfa-blokkoló és antioxidáns hatással is rendelkező carvedilol endothelfunkcióra kifejtett hatását.

A két szert állatkísérletekben már több alkalommal összehasonlították. *Intengan és társai* vizsgálatában a

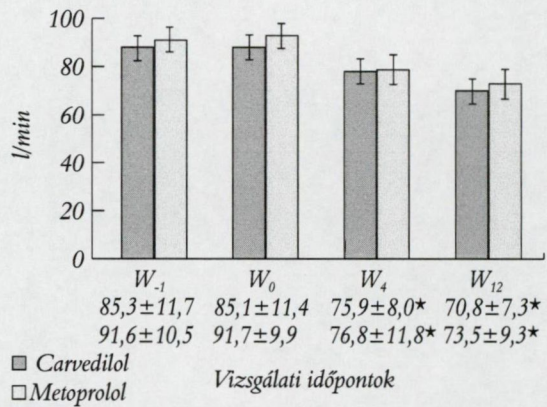
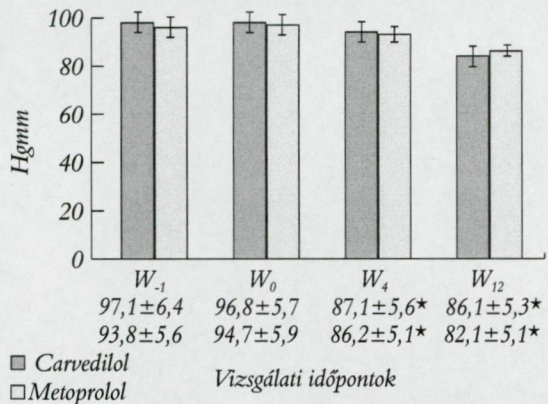
Nagy és mtsai.: Carvedilol és metoprolol összehasonlító vizsgálata



1. ábra. A szisztolés vérnyomás alakulása a vizsgálat során (A W₄ és W₁₂ értékek szignifikánsan csökkentek mindkét csoportban a kiindulási W₀ értékhez képest (*p<0,01). A két csoport között nem volt szignifikáns különbség a szisztolés vérnyomáscsökkenés mértékében)

carvedilol javította a hipertenzió indukálta endothel-diszfunkciót hipertenzív patkányokban, míg a metoprololnak nem volt kedvező hatása (15). Matsuda és társai humán klinikai vizsgálatában a carvedilol placebohoz képest javította az arteria brachialis áramlásfüggő dilatációját koronáriabetegekben (16). Panza és társai a béta-blokád hatását vizsgálták a mikrocirkuláció endothelfunkciójára, és nem találtak kedvező hatást (17). Eredményeink alapján a carvedilol a metoprolol-szukcináthoz képest szignifikánsan nagyobb mértékben javította az endothelfunkciót jelző FMD-t. Ezen

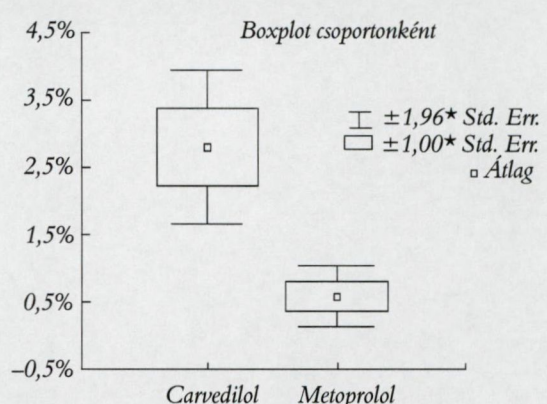
2. ábra. A diasztolés vérnyomás alakulása a vizsgálat során (A W₄ és W₁₂ értékek szignifikánsan csökkentek mindkét csoportban a kiindulási W₀ értékhez képest (*p<0,01). A két csoport között nem volt szignifikáns különbség a diasztolés vérnyomáscsökkenés mértékében)



3. ábra. A szívfrekvencia alakulása a vizsgálat során (A W₄ és W₁₂ értékek szignifikánsan csökkentek mindkét csoportban a kiindulási W₀ értékhez képest (*p<0,001). A két csoport között nem volt szignifikáns különbség a vérnyomáscsökkenés mértékében)

kedvező hatás oka nem teljesen tisztázott. Az eredményekből kitűnik, hogy a két szer vérnyomás- és szívfrekvencia csökkentő hatása hasonló volt. Ebből következően a carvedilol endothelfunkciót javító hatásában nem volt szerepe a vérnyomáscsökkentésnek, azaz magas vérnyomásban szenvedő diabéteszes betegeknél a vérnyomás csökkentése önmagában nem rendezte az endothel-diszfunkciót. A carvedilol szénhidrát-anyagcserére kifejtett hatását többten vizsgálták. A vizsgálok egy része a carvedilol hatását a glükózzanyagcserére kedvezőnek találta (18), másoknál a carvedilol nem befolyásolta a glükóztoler-

4. ábra. A 12 hetes carvedilol és metoprolol kezelés FMD-re gyakorolt hatásának összehasonlítása. (A carvedilol a metoprololhoz képest szignifikánsan nagyobb mértékben növelte az FMD értéket p<0,01)



Nagy és mtsai.: Carvedilol és metoprolol összehasonlító vizsgálata

ranciát, illetve a szénhidrát-anyagcserét (19). Jelen vizsgálatunkban a szénhidrát- és lipidanyagcserét jellemző paraméterek egyikét sem változtatta meg szignifikáns mértékben a két vizsgálati szerrel végzett 12 hetes kezelés, és nem volt különbség a carvedilol és a metoprolol-szukcinát hatása között sem.

A fentiekből arra lehet következtetni, hogy a carvedilol endothelfunkciót javító hatásában sem a béta-blokkoló hatásnak, sem az anyagcserehatásnak nem volt szerepe. A 12 hetes carvedilol kezelés az endothelfunkciót valószínűleg az antioxidáns és/vagy alfa-blokkoló hatásán keresztül javította.

Az endothelfunkció megítélése fibrinolitikus aktivitás laboratóriumi megítélése alapján is lehetséges. Vizsgálatunkban a carvedilol és a metoprolol-szukcinát között nem volt szignifikáns különbség sem a t-PA sem a PAI-1-értékekre gyakorolt hatásban, bár tendenciát illetően a carvedilol hatása kedvezőbb volt, mint a metoprololé. A fibrinolitikus hatás megítélésének érzékenyebb módszere lett volna, ha a fenti para-

métereket provokált anoxia után mérjük. Az endothel fibrinolitikus funkciójának provokált anoxia nélküli megítélésekor más vizsgálok sem észleltek kedvező hatást carvedilol adása után (20).

Következtetések

Károsodott endothelfunkciójú, nem inzulindependens diabéteszben szenvedő, hipertóniás betegeknek 12 hetes carvedilol kezelés szignifikánsan nagyobb mértékben javította az endothelfunkciót a 12 hetes metoprolol-szukcinát kezeléshez képest. Ezen kedvező hatás hátterében a carvedilol antioxidáns, illetve alfareceptor-blokkoló hatása valószínűsíthető. A közelmúltban publikált COMET-tanulmányban dekompenzált betegeknek a túlélés tekintetében kedvezőbbnek bizonyult a carvedilol a metoprolol-tartarát-nál, amelynek egyik oka az endothelfunkcióra gyakorolt szignifikánsan kedvezőbb hatás lehet (21).

Irodalom

- Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing factors. *FASEB J* 1989; 3: 2007–2018.
- Lüscher TF, Barton M. Biology of the endothelium. *Clin Cardiol* 1997; 20 (Supp III): 3–10.
- Tarján J. Az endothel dysfunctio diagnóza és terápiaja. *Card Hung* 1997; (Suppl 2): 3–8.
- Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002–2012.
- Creager MC, Cooke JP, Mendelshon ME, et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin invest* 1990; 86: 228–234.
- Benjamin N, Vane J. Nitric oxide and hypertension. *Circulation* 1996; 94: 1197–1198.
- Lind L, Lithell H. Decreased peripheral blood flow in the pathogenesis of the metabolic syndrome comprising hypertension, hyperlipidaemia, and hyperinsulinaemia. *Am Heart J* 1993; 125: 1494–1497.
- Nagy L, Tarján J, Sámóczy M, Kovács I. Hipertóniás betegek endothel funkciója. *Card Hung* 1997; (Suppl 2): 9–12.
- Sowers JR, Epstein M. Diabetes mellitus and associated hypertension, vascular disease and nephropathy: an update. *Hypertension* 1995; 26: 869–879.
- Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, et al. Effects of antihypertensive drugs on endothelial dysfunction: clinical implications. *Drugs* 2002; 62: 265–284.
- Nagy L, et al. Effect of benazepril on endothelial function in previously untreated hypertensive patients. *American Journal of Therapeutics* 1998; 5: 233–236.
- Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111–1115.
- Corretti MC, et al. Guidelines for Ultrasound assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilatation of Brachial Artery. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39 (2): 257–265.
- Nagy L, et al. Magyar konszenzus az arteria brachialis áramlásfüggő „flow mediated” vasodilatációjának vizsgálatához. *Ér-betegségek* 2003; 10 (2): 47–50.
- Intengan HD, Schiffrin EL. Disparate effect of carvedilol versus metoprolol treatment of stroke-prone spontaneously hypertensive rats on endothelial function of resistance arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000; 35 (5): 763–768.
- Yasuaki M, Hozuka A, Masahiro T, et al. Carvedilol improves endothelium-dependent dilatation in patients with coronary artery disease. *Am Heart J* 2000; 140: 753–759.
- Panza JA, Quyyumi AA, Callaha TS, et al. Effect of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21: 1145–1151.
- Stephan J, Rett K, Wicklmayer M, et al. Differential effect of chronic treatment with two beta-blocking agents on insulin sensitivity: the carvedilol-metoprolol study. *Journal of hypertension* 1998; 14: 489–494.
- McTavish D, Campoli-Richards D, Sorkin EM. Carvedilol. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy. *Drugs* 1993; 45 (2): 232–258.
- I Gonzalez Maqueda. Adrenoceptors, endothelial function, and lipid profile: effect of atenolol, doxazosin, and carvedilol. *Coronary Artery Disease* 1994; 5: 909–918.
- Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): randomized controlled trial. *Lancet* 2003; 362 (9377): 7–13.

VI.

Simvastatin hatása coronaria-X szindrómás betegek terhelésre jelentkező ST-depressziójára és endothel funkciójára

dr. Fábián Emília, dr. Csanády Miklós¹

Péterfy Kórház Erzsébet Kórháza, Budapest,
Szegedi Tudományegyetem, II. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ, Szeged¹

Levelezési cím:
1037 Budapest,
Laborc u.48.
Tel.: 06 70 335 50 83
E-mail: dr.fabian.emilia@ihklinika.hu

Absztrakt

Vizsgálatunk célja a simvastatin enyhe hypercholesterinaemiás coronaria-X szindrómás betegek terhelésre jelentkező ST-depressziójára, illetve endothel funkciójára kifejtett hatásának értékelése volt. Betegek/módszerek: coronaria-X szindrómás betegeket placebo (n=20) és 20 mg simvastatint (n=20) szedő csoportokra randomizáltuk. Meghatároztuk az a. brachialis áramlás kiváltotta dilatációját (FMD), az összcholesterin-, LDL-cholesterin-, HDL-cholesterin-, triglycerid-szinteket és terheléses EKG-t végeztünk a bevonáskor és a vizsgálat végén. Eredmények: A cholesterol-szintek nem változtak szignifikánsan a placebo csoportban. Az összkoleszterinszint szignifikáns 26 %-os ($5,86 \pm 0,13$ mmol/l vs. $4,63 \pm 0,37$ mmol/l, $p < 0,0001$), valamint az LDL-szint szignifikáns 38 %-os csökkenését ($4,47 \pm 0,12$ mmol/l vs. $3,22 \pm 0,37$ mmol/l, $p < 0,0001$), a HDL-szint szignifikáns 7 %-os növekedését észleltük ($0,99 \pm 0,05$ mmol/l vs. $1,05 \pm 0,05$ mmol/l, $p < 0,0001$) a 12 hetes simvastatin kezelést követően. A triglycerid szintek nem változtak szignifikánsan a vizsgálat ideje alatt egyik csoportban sem. Az FMD nem változott szignifikánsan a placebo csoportban, de szignifikánsan 52%-al nőtt a simvastatin kezelést követően ($4,01 \pm 0,91$ % vs. $6,12 \pm 0,79$ %, $P < 0,0001$). A simvastatin csoportban a >1 mm-es ST szakasz depresszió megjelenéséig eltelt idő szignifikánsan hosszabb lett ($4,45 \pm 0,39$ min vs. $5,33 \pm 0,27$ min, $P < 0,0001$). Következtetések: Enyhe hypercholesterinaemiás coronaria-X szindrómás betegek 12 hetes simvastatin kezelése jótékony hatással bírt mind a lipid paraméterekre, mind az endothel funkcióra. A simvastatin csoportban a terheléses EKG során észlelt hosszabb ischaemiamentes idő valószínűleg az endothel funkció javulását tükrözi.

Kulcsszavak: endothel funkció, coronaria-X szindróma, simvastatin

Abstract

Aims: To assess the effect of chronic statin therapy on exercise-induced ST segment depression and on systemic endothelial function in cardiac syndrome-X patients with mild hypercholesterolemia.

Methods : Cardiac syndrome-X patients were randomized to placebo (n=20) or simvastatin 20 mg daily (n=20). Brachial artery flow-mediated dilatation (FMD), total cholesterol (T-C), LDL cholesterol (LDL-C), HDL cholesterol (HDL-C), triglyceride (TG) were measured and exercise stress tests were performed at the baseline and after 12 weeks of treatment.

Results: Simvastatin resulted in a significant decrease in T-C (5.86 ± 0.13 mmol/L vs. 4.63 ± 0.37 mmol/L, $P < 0.0001$, 26%) and LDL-C levels (4.47 ± 0.12 mmol/L vs. 3.22 ± 0.37 mmol/L, $P < 0.0001$, 38 %), in an increase in HDL-C levels (0.99 ± 0.05 mmol/L vs. 1.05 ± 0.05 mmol/L, $P < 0.0001$, 7 %), but no significant changes in TG levels. Brachial artery FMD increased significantly (4.01 ± 0.17 % vs. 6.12 ± 0.18 %, $P < 0.0001$, 52 % relative increase) due to simvastatin treatment. The time to > 1 mm ST segment depression during stress test was longer in the simvastatin group by the end of the study (4.45 ± 0.39 min vs. 5.33 ± 0.27 min, $P < 0.0001$).

Conclusion: 12 weeks of simvastatin therapy exerts beneficial effects not only on lipid parameters, but also on endothelial function in cardiac syndrome-X patients with mild hypercholesterolemia. The prolonged time to > 1 mm ST segment depression during exercise stress test may reflect the improvement of endothelial function.

Key words: endothelial function, cardiac syndrome-X, simvastatin

Bevezetés

A coronaria X-szindróma diagnózisa a típusos anginás tünetegyüttes és a terhelés során provokálható ischaemiára utaló EKG-eltérések mellett a negatív coronarographiára alapul (1,2). Az anginát okozó feltételezett mechanizmus ebben a kórképben a coronaria-microvasculatura funkcionális károsodása következtében kialakuló kóros coronaria rezerv áramlás (3,4). Ez azt sugalja, hogy coronaria-X szindrómában a coronaria-keringés kóros vazodilator válasza az endothelium diszfunkció következménye (5,6,7). A coronaria-X szindróma kezelése méltó kihívás a kardiológus számára, hiszen a gyakori angina és csökkent fizikai terhelhetőség jelentősen rontja ezen betegek életminőségét (8). Vizsgálatunk célja a tartós simvastatin kezelés enyhe hypercholesterinaemiás coronaria-X szindrómás betegek terhelésre jelentkező ST-depressziójára és endothel funkciójára kifejtett hatásának értékelése volt.

Módszerek

Betegcsoport

40 enyhe hypercholesterinaemiás coronaria-X szindrómás beteg került bevonásra. A coronaria-X szindróma diagnózisának alapját képezték a következők: típusos angina, terheléses EKG során jelentkező > 1 mm tranziens ST szegmens depresszió, myocardialis perfúziós scintigraphia során észlelhető tranziens perfúziós defektus, coronarographiával igazolt ép coronariák, amennyiben nem állt fenn szisztémás hypertonia, bal kamra hypertrophia. A thallium scintigraphiára és coronarographiára a bevonás előtt egy éven belül került sor. A tranziens perfúziós defektust mutató myocardialis perfúziós scintigramot értékeltük pozitívként. Az angiogramot normálisnak tekintettük amennyiben nem volt vizuálisan észlelhető fali egyenetlenség. Azon betegek kerültek bevonásra, akik az alábbi feltételeknek megfeleltek: normal coronaria angiogram; pozitív terheléses EKG; pozitív myocardialis perfúziós scintigram; normal regionális és globális nyugalmi bal kamra funkció;

enyhén emelkedett szérum össz-cholesterin szint (>5.2 mmol/l). Kizárási kritérium volt a korábbi myocardiális infarctus, szívbillentyű betegség, beleértve a mitrális prolapsust, congestív szívelégtelenség, cardiomyopathia, sinus csomó diszfunkció vagy vezetési zavar (bal Tawara-szárblock is), diabetes mellitus, vese-és májelégtelenség, dohányzás. A betegek az American Heart Association által javasolt II. fokozatú diétát tartották, illetve béta-blokkolókból és/vagy calcium-antagonistából álló antianginás kezelést és aspirint kaptak, nem részesülhettek tartós hatású nitrát, NO-donor, trimetazidine és angiotensin-konvertáló enzim inhibitor kezelésben, csak sublinguális nitrátkészítményt alkalmazhattak angina jelentkezése esetén. A bevonáskor alkalmazott gyógyszerelés változatlan maradt a vizsgálat időtartama alatt. A postmenopausás nőbetegek nem kaptak hormonpótló kezelést (1. táblázat).

Bevonáskor a szérum laboratóriumi elemzését és módosított Bruce-protokoll szerint terheléses EKG-t végeztünk, meghatároztuk az a. brachiális áramlás kiváltotta dilatációját (FMD), majd a betegeket 12 héten keresztül placebo vagy 20 mg simvastatint szedő csoportokra randomizáltuk.

Laboratóriumi mérések

Meghatároztuk a szérumösszkoleszterin-, HDL-koleszterin-, illetve szérumtriglicerid-szinteket. Az LDL-szintet a Friedewald-képlet alapján számítottuk.

Terheléses EKG

A betegeken treadamill-ergometriát végeztünk módosított Bruce-protokoll szerint (Cardiovit AT-104 treadmill, Schiller). A vérnyomást, szívfrekvenciát és a 12-elvezetéses EKG-t nyugalomban, a terhelés alatt 1-percenként, a terhelés csúcsán, majd a visszatérési időszakban, legalább 5 percig rögzítettük. Ezenkívül az EKG-t és az ST-szakasz változásait folyamatosan számítógép-programmal monitoroztuk és értékeltük. A terheléses EKG vizsgálat végpontja a kor-specifikus célfrekvencia elérése vagy a terhelés azonnali megszakítását szükségessé tévő tünetek megjelenése volt. A terheléses EKG-t $> 0,1$ mV vagy

>1mm (0,08 s-mal a J pont után) descendáló vagy horizontális ST-depresszió jelentkezése esetén tekintettük pozitívnak. A terhelési időt (percekben) is elemeztük, különös tekintettel a terhelés kezdetétől számított >1mm ST-depresszió megjelenési idejére (ischaemia-mentes idő).

Endothelfunkció

Az endothel funkciót Celermajer módszere (9), a nemzetközi (13) és a magyarországi konszenzus (14) szerint az artéria brachiális áramlás fokozásával kiváltott érátmérő változása alapján határoztuk meg. A vizsgálat előtt a betegek 10 percet fekvő pihentek a 20–25°C hőmérsékletű vizsgálóhelyiségben. A vizsgálatokat 12.00–15.00 óra között, minimum 4 órával az utolsó étkezést követően végeztük. Hewlett Packard SONOS 2000 ultrahangkészülékhez csatlakoztatott 7,5 MHz transducert alkalmaztunk, a méréseket S-VHS videokazettán rögzítettük. Az artéria brachialis átmérőjét 2D-módban longitudinális metszetben, a domináns jobb vagy bal felkaron, egy anatómiai markertől, például bifurcatiótól fix távolságra, 2–15 cm-rel a könyökhajlat felett vizsgáltuk. Az anterior „m”-vonal és a posterior „m”-vonal közötti távolságot végdiastolében, EKG-kapuzással mértük. A felvételeket nyugalomban, a reaktív hyperaemia alatt, ismét nyugalomban, végül sublingualis nitrát alkalmazását követően készítettük. Az alapmérések után a vérnyomásmérő mandzsettáját a könyökhajlat alá helyeztük, a mandzsettát 270 Hgmm fölé fűjtük, s az alkart 4,5 percre leszorítottuk. A felengedést követő 45 és 60 s intervallumban ismét megmértük az érátmérőt. Az ér eredeti állapotába való visszatéréséhez szükséges 10 percnyi nyugalmi állapot után sublingualisan 400 µg glyceryl trinitrátot adtunk, majd a nitrát alkalmazását követően 3 perccel végeztük az utolsó méréseket a nitrát mediálta vazodilatáció (NMD) alatt. A maximális FMD-t és NMD-t 3 érátmérőből átlagoltuk, az alap érátmérőhöz viszonyított maximális értékgulatót %-ban fejeztük ki.

Statisztikai analízis

A mért értékeket átlag \pm standard deviációban fejeztük ki.

A randomizációkor és a vizsgálat végén kapott eredmények statisztikai analíziséhez kétmintás Student-*t* próbát, a korrelációk meghatározására Pearson korreláció számítást alkalmaztunk. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

Lipidszintek

A koleszterin-szintek nem változtak szignifikánsan a placebo csoportban. Az összkoleszterin-szint szignifikáns 26 %-os csökkenését ($5,86 \pm 0,13$ mmol/l vs. $4,63 \pm 0,37$ mmol/l, $p < 0,0001$), valamint az LDL-szint szignifikáns 38 %-os csökkenését ($4,47 \pm 0,12$ mmol/l vs. $3,22 \pm 0,37$ mmol/l, $p < 0,0001$) észleltük a 12 hetes simvastatin kezelést követően. Ugyanakkor az HDL-szint szignifikáns 7 %-os növekedését tapasztaltuk ($0,99 \pm 0,05$ mmol/l vs. $1,05 \pm 0,05$ mmol/l, $p < 0,0001$) a simvastatin csoportban. Szignifikáns korreláció mutatkozott az összkoleszterin és LDL-szint csökkenése között ($r = 0,99$). A triglycerid szintek nem változtak szignifikánsan a vizsgálat ideje alatt egyik csoportban sem ($p=ns$) (1.ábra).

Terheléses EKG

A beválasztási kritériumoknak megfelelően a betegek terheléses EKG-ja pozitív eredményű volt a randomizációkor. A vizsgálat végén a placebo csoportban nem volt szignifikáns különbség a terheléses EKG során a >1 mm-es ST szakasz depresszió megjelenéséig eltelt időben, míg a simvastatin csoportban ez az időintervallum szignifikánsan hosszabb lett ($4,45 \pm 0,39$ min vs. $5,33 \pm 0,27$ min, $P < 0,0001$). A 12 hét simvastatin kezelést követően 4 beteg esetében a terheléses EKG során nem alakult ki kóros ST-depresszió és a terhelést a célfrekvencia elérésekor szakítottuk meg (2.táblázat).

Az FMD százalékos javulása és az ST depresszió kialakulásáig eltelt idő, illetve a szérumszint összkoleszterin-szint és LDL-szint csökkenése között nem találtunk szignifikáns korrelációt.

Vascularis ultrahangvizsgálat

Az arteria brachialis áramlás kiváltotta dilatációja nem változott szignifikánsan a placebo csoportban ($4,07 \pm 0,12\%$ vs. $4,06 \pm 0,15\%$, $p = ns$), de szignifikánsan 52%-al nőtt a simvastatin kezelést követően ($4,01 \pm 0,91\%$ vs. $6,12 \pm 0,79\%$, $P < 0,0001$). A nitrátra adott válasz hasonló volt a vizsgálat mindkét stádiumában mindkét csoportban (2. ábra).

Megbeszélés

A hypercholesterinaemia hatása az endothelfunkcióra

A hypercholesterinaemia okozta oxidatív stressz sarkalatos pontnak tűnik az endothelfunkció romlásában (12,13,14), egy sor változást indít a vascularis homeosztázisban, többek között a NO bioreaktivitásának csökkenését, a szuperoxid termelés és az endothelin immunreaktivitásának növekedését, az adhézis molekulák felszaporodását és mindezek által az endothelfüggő vasodilatatio csökkenését (15,16,17).

Több vizsgálat kimutatta a koleszterinszint-csökkentő kezelés endothelfunkciót javító hatását. Ohara és mtsai bizonyították, hogy a koleszterinszegény diéta javítja az endothelfüggő vazodilatációt (18). Anderson és munkacsoportja az LDL-csökkentő és antioxidáns kezelés, simvastatin és probucol kombinálásának hatására a koszorúerek endothelfunkciójának csaknem teljes normalizálódását észlelte (19). Primer hypercholesterinaemiában az atorvastatin vagy simvastatin és cholestyramin kezelés javította az endothelfunkciót, és ez a hatás a későbbiekben bekövetkező coronariaesemények megelőzésében is megnyilvánult (20). Úgy tűnik a statinok hatása a koleszterinszintet csökkentő effektuson túl az endotheliumból fokozódó NO-felszabadulásnak tulajdonítható, pleiotrop hatásuk révén jelentősen hozzájárulnak a HMGCoA-reduktáz-gátlók koszorúér-betegségben való alkalmazásának klinikai hatékonyságához, amely hatás független lehet a koleszterinszint csökkentésétől (21,22,23,24).

Eredményeink is egyeznek az említettekkel, hiszen a coronaria X-szindrómás betegek

simvastatin kezelése következtében az endothel funkció javulását igazoltuk.

Terhelésre jelentkező ischaemiára utaló ST-depresszió ép koszorúerek esetében:

a szisztémás endothel diszfunkció markere

Eredményeink arra utalnak, hogy az ép coronariák ellenére észlelhető terhelésre jelentkező ST-depresszió kóros szisztémás endothelfunkcióval társul. Ahhoz, hogy bizonyíthassuk e két faktor közötti ok-okozati összefüggést, fontos volt annak dokumentálása, hogy a terhelésre jelentkező ischaemia csökken az endothelfunkciót javító adekvát terápia hatására.

A problémát már más kutatócsoportok is tanulmányozták a miénktől eltérő beteganyagban és módszerrel. Viridis és mtsai által vizsgált szabályos coronarogrammal, de dipiridamol stressz echocardiographia során indukálható ST-depresszióval rendelkező hypertóniásokban magasabb vascularis rezisztenciát mértek mind vénás pletizmográfiával, mind intrabrachialisán adott endogén vasodilatator acetilkolin alkalmazása során. Ezen túlmenően 12 hónapos ACE-gátló kezelés után a vascularis rezisztencia szignifikáns csökkenését csak azokban a betegekben tapasztalták, akik a vizsgálatba történő bevonáskor terhelésre ischaemiára utaló ST-depresszióval válaszoltak, de a vizsgálat végén az ST-depresszió már nem jelentkezett.

Vizsgálatunk hasonló Viridis és mtsai tanulmányához számos módszertani különbség ellenére: ők ugyanis esszenciális hypertóniásokat vizsgáltak, míg mi enyhe hypercholesterinaemiás coronária X-szindrómás betegeket; stresszfaktorként dipiridamolt alkalmaztak, mi fizikai terhelést. A gyógyszeres kezelés is alapvetően különbözött, mivel ők ACE-inhibitort, mi statin terápiát alkalmaztunk. Az endothelfunkciót ugyancsak eltérő módszerekkel mértük: vénás pletizmográfiával Viridis és mtsai, míg mi magas frekvenciájú ultrahanggal. Mindezen módszertani különbségek ellenére a két vizsgálat eredményei konvergálnak, hangsúlyozva azt, hogy a stresszre jelentkező ST-depresszió endotheldiszfunkció következménye, amely visszafordítható az alapvető etiológiai faktort célzó kezeléssel. Vizsgálatunk is azt támasztja

alá, hogy a simvastatin kezelés javítja mind a szisztémás, mind a koszorúér endothel működést terhelésre ST-depresszióval reagáló enyhe hypercholesterinaemiás coronaria-X szindrómás betegekben.

A vizsgálat korlátai

A vizsgált betegek béta-blokkolókból és/vagy calcium-antagonistákból álló antianginás kezelésben részesültek már a beválasztás előtt, illetve a vizsgálat alatt változatlanul, amely gyógyszerek szintén endothelfunkció javulást eredményezhetnek. Ugyanakkor a betegeknek endothel diszfunkciójuk volt a randomizációkor ezen szerek alkalmazása mellett, tehát nem valószínű, hogy befolyásolhatták az eredményeket.

A betegszám relatíve alacsony volt (20-20 beteg mindkét csoportban), azonban a beválasztás szigorú kritériumok alapján történt, így igen homogén betegcsoporthoz jutottunk.

Következtetés

Enyhe hypercholesterinaemiás coronaria-X szindrómás betegek 12 hetes simvastatin kezelése jótékony hatással bírt mind a lipid paraméterekre, mind az endothelium funkcióra. A simvastatin csoportban a terheléses EKG során észlelt hosszabb ischaemia-mentes idő valószínűleg az endothel funkció javulását tükrözi.

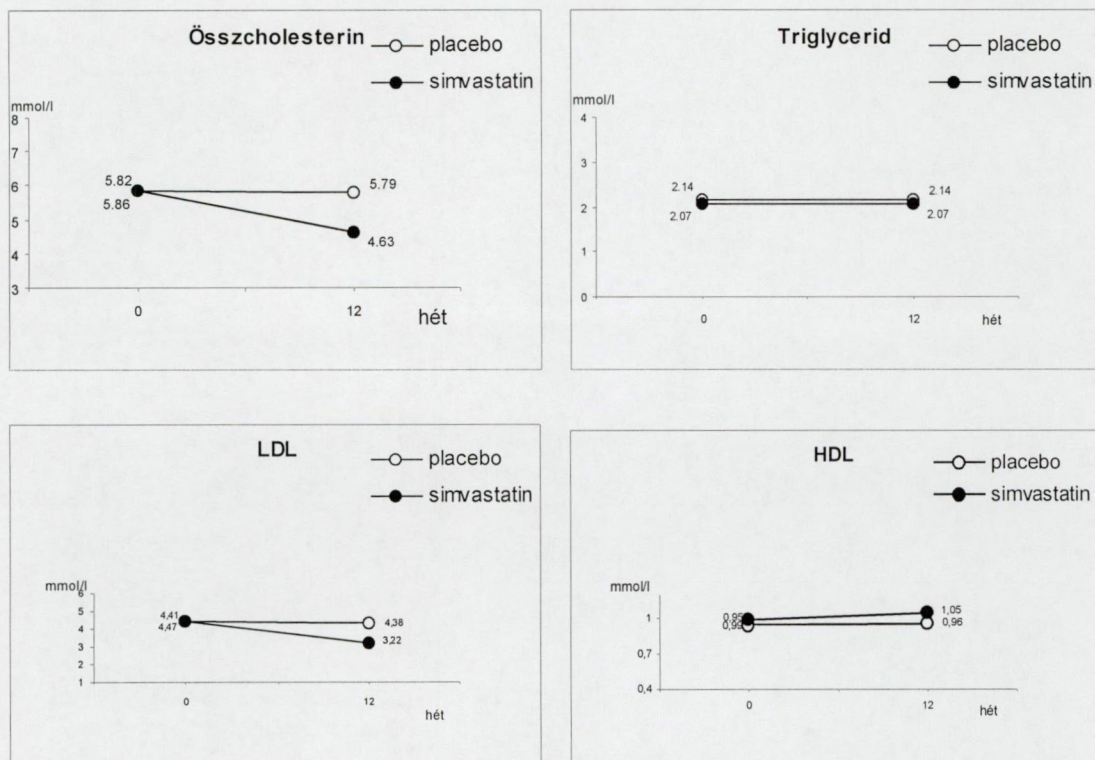
Irodalomjegyzék

1. Kemp HK. Syndrome-X revisited. J Am Coll Cardiol 1991; 17: 507-8.
2. Cannon RO, Camici PG, Epstein SE. Pathophysiological dilemma of syndrome X. Circulation 1992;85:883-92.
3. Maseri A, Crea F, Kaski JC et al. Mechanism of angina pectoris in syndrome-X. J Am Coll Cardiol 1991;17:499-506.
4. Meeder JG, Blanksma PK, Crinjs HJGM et al. Mechanism of angina pectoris in syndrome-X assessed by myocardial perfusion dynamics and heart rate variability. Eur Heart J 1995;16:1571-77.
5. Vrints CJ, Bult H, Hitter E et al. Impaired endothelium dependent coronary vasodilatation in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms. J Am Coll Cardiol 1992; 19: 21-31.
6. Motz W, Vogt M, Rabenau O et al. Evidence of endothelial dysfunction in coronary resistance vessels in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms. Am J Cardiol 1991; 68: 996-1003.
7. Zhang X, Zhao SP, Li XP, Gao M, Zhou QC. Endothelium-dependent and -independent functions are impaired in patients with coronary heart disease. Atherosclerosis 2000; 149: 19-24.
8. Atienza F, Velasco JA, Browns S et al. Assessment of quality of life in patients with chest pain and normal coronary arteriogram (syndrome-X) using a specific questionnaire. Clin Cardiol 1999;22:283-90.
9. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM et al. JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet 1992; 340: 1111-15.

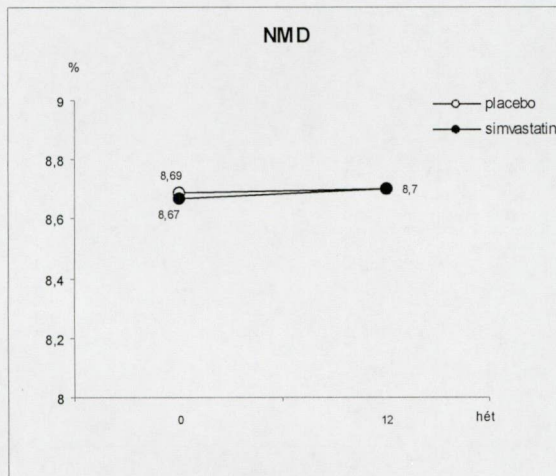
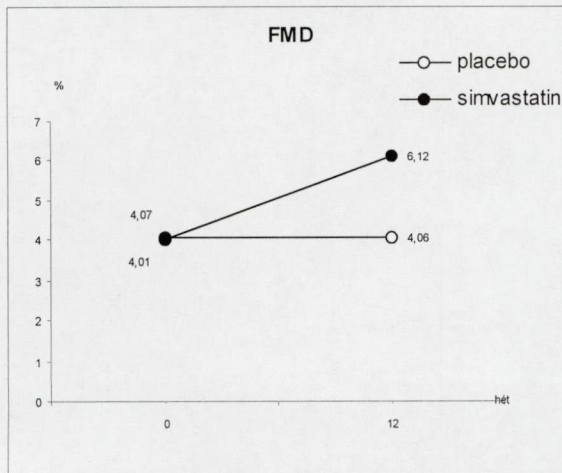
10. Coretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilatation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:257-65.
11. Nagy L, Bajko S, Fábrián E és mtsai. Magyar konszenzus az artéria brachialis áramlásfüggő „flow mediated” vasodilatációjának vizsgálatához *Érbetegségek* 2003;2:47-50.
12. Reddy KG, Nair RN, Sheehan HM, Hodgson JM. Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultrasound atherosclerosis in patients with risk factors for atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23: 833-43.
13. Steinberg D. Antioxidants and atherosclerosis: a current assessment. *Circulation* 1991; 84: 1420-25.
14. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1990; 86: 228-234.
15. Rubanyi GM, Vanhouette PM. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986; 250: H822-H827.
16. Lerman A, Webster MW, Chesebro JH et al. Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in hypercholesterolemic pigs. *Circulation* 1993; 88: 2923-28.
17. Anderson TJ, Meredith IT, Charbonneau F, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P. Endothelium-dependent coronary vasomotion relates to the susceptibility of LDL to oxidation in humans. *Circulation* 1996; 93: 1647-50.
18. Ohara Y, Peterson TE, Sayegh HS, Subramanian RR, Wilcox JN, Harrison DG. Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. *Circulation* 1995; 92: 898-903.

19. Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P. The effect of cholesterol lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995; 332: 488-93.
20. Simons LA, Sullivan D, Simons J, Celermajer DS. Effects of atorvastatin monotherapy and simvastatin plus cholestyramine on arterial endothelial function in patients with severe primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1998;137:197-203.
21. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. Changes in flow-mediated brachial artery vasoactivity with lowering of desirable cholesterol levels in healthy middle-aged men. *Am J Cardiol* 1996;77:37-40.
22. Hernandez-Perera O, Perez-Sala D, Navarro-Antolin J et al. Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1998;101:2711-19.
23. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation* 1998;97:1129-35.
24. Dupuis J, Tardif JC, Cernacek P et al. Cholesterol reduction rapidly improves endothelial function after acute coronary syndromes. The RECIFE (Reduction of cholesterol in ischemia and function of the endothelium) trial. *Circulation* 1999; 99: 3227-33.
25. Viridis A, Ghiadoni L, Lucarini R et al. Presence of cardiovascular structural changes in essential hypertensive patients with coronary microvascular disease and effects of long-term treatment. *Am J Hypertens* 1996; 9:361-69.

1.ábra. A lipidfrakciók változása



1. ábra A lipid frakciók változása randomizációkor és a vizsgálat végén: placebo(□) (n=20), simvastatin (■) (n=20). A placebo csoportban nem volt statisztikailag értékelhető változás (p=ns). A szérum összcholesterin-szint és LDL-szint szignifikánsan csökkent ($p < 0.0001$), a HDL-szint szignifikánsan nőtt ($P < 0.0001$) a simvastatin kezelés hatására. A triglycerid szintek nem változtak szignifikánsan a vizsgálat ideje alatt egyik csoportban sem (p=ns).

2.ábra. A flow-mediálta és nitrát-mediálta dilatáció változása

2. ábra Az artéria brachiális flow-mediálta dilatációja (FMD) nem változott szignifikánsan a placebo csoportban ($p=ns$), de szignifikánsan nőtt a simvastatin kezelést követően ($p<0,0001$). A nitrátra adott válasz hasonló volt a vizsgálat mindkét stádiumában mindkét csoportban ($p=ns$).

VII.

Comparison of the Effects of *Carvedilol* and *Metoprolol* on Blood Pressure and Endothelial Function in Patients with Hypertension and type-2 Diabetes Mellitus.

Emilia Fábián, MD, Nagy Lajos, MD¹, PhD, Imre Kovács, MD,¹

Miklós Csanády, MD, DSc, FESC²

Department of Cardiology, Elizabeth Hospital,

Budapest, Hungary

Cardiac Department of Markusovszky University Teaching Hospital,

Szombathely, Hungary¹

University of Sciences, 2nd Department of Medicine and Cardiology Center

Szeged, Hungary²

Address for correspondence:

Emília Fábián, MD

Department of Cardiology, Elizabeth Hospital

Laborc u 48.

1037 Budapest, Hungary

Fax: 011 36 1 224 5424

Tel: 011 36 70 335 5083

Email: dr.fabian.emilia@ihklinika.hu

Abstract

The aim of present study was to compare the effects of carvedilol and metoprolol on the blood pressure, endothelial function and metabolic parameters of patients with hypertension and type 2 diabetes.

Patients and methods: 36 patients with well-controlled type 2 diabetes, mild/moderate hypertension and impaired endothelial function (flow mediated dilatation of brachial artery, < 5%) were randomized to either 2x12.5 mg of carvedilol (n=19) or 50 mg of metoprolol succinate (n=17) daily. The dose of study drugs was doubled after 4 weeks if the patient had not reached the 130/80 mmHg target blood pressure. Endothelial function was evaluated by FMD and the levels of tissue plasminogen activator (t-PA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and vascular cell adhesion molecule (VCAM-1).

Results: Heart rate and blood pressure significantly decreased in both groups during the 12 week study period without significant differences between the blood pressure and heart rate lowering effect of two drugs. FMD increased with carvedilol significantly ($2.72 \pm 1.11\%$ vs $5.50 \pm 2.28\%$, $p=0.0001$), while it did not change with metoprolol succinat ($3.4 \pm 0.89\%$ vs $3.99 \pm 1.18\%$ $p=ns$). The FMD alteration was significantly higher with carvediolol ($p=0.0012$). Laboratory parameters did not change significantly.

Conclusions: 12 week long carvedilol treatment significantly improved the endothelial function in patients with hypertension and type 2 diabetes, but the effect of metoprolol was not significant. There was no difference in the heart rate and blood pressure lowering effect of two drugs. The favorable effect of carvedilol could be due to its other effects.

Key words: endothelium, hypertension, diabetes mellitus, beta-blocker

Introduction

Endothelial cells have an important protective role in maintaining the normal physiological function of the vascular wall by releasing vasoactive mediators (1). Nitric oxide is the best characterized and probably the most important among those. This agent not only acts to dilate vascular smooth muscle, but also inhibits smooth muscle cell proliferation, platelet aggregation and adhesion of platelets to endothelial surface, stimulates platelet disaggregation and fibrinolysis, inhibits inflammation in the vessel wall (2,3). There are several methods available to assess endothelial function. Flow mediated dilatation of brachial artery (FMD) characterizes the effects of endothelium on vasomotor function. The effects of endothelium on fibrinolysis can be judged by measuring levels of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and tissue plasminogen activator (t-PA), while vascular cell adhesion molecule (VCAM-1) concentration characterizes endothelial effects on adhesion. Dysfunction of endothelial cells is a systemic process and occurs in the presence of atherosclerosis or its risk factors, such as hypercholesterolemia, hypertension, diabetes (4-6), which are frequently seen together and strongly predisposed to cardiovascular disease (7).

It has been widely demonstrated that blood pressure reduction is not sufficient to improve or restore endothelial function. This beneficial effect can be achieved only by specific mechanisms not shared by all drug classes (8, 9).

The aim of our study was to compare the effects of 12 weeks of antihypertensive therapy with carvedilol, a non-selective beta-adrenoreceptor blocker with α_1 -blocking properties, with the selective β_1 receptor blocker metoprolol on endothelial function in patients with hypertension and type 2 diabetes mellitus.

Methods

Patient population

The patient population was recruited from two participating outpatient care centers. 36 patients with type 2 diabetes mellitus and mild or moderate essential hypertension (systolic blood pressure > 130 and < 180 mmHg, diastolic blood pressure > 85 and < 110 mmHg on repeated measurements) were recruited to the study. Patients were eligible if they met the following inclusion criteria: adequate glycemic control ($\text{HbA1c} < 7\%$) with diet or oral hypoglycemic agents, unchanged and constant antihypertensive treatment for 6 months before enrollment (consisted of enalapril, Ca^{2+} -antagonists, diuretics), total serum-cholesterol level < 6.5 mmol/L, low-density lipoprotein cholesterol level < 3.4 mmol/L, triglyceride level < 2.3 mmol/L and the flow mediated dilatation of the brachial artery, measured by vascular ultrasound $< 5\%$, confirmed impaired endothelial function. The exclusion criteria were previous myocardial infarction and unstable angina, stroke within the preceding 6 months, stable angina, angiographically assessed coronary artery disease, secondary hypertension, known peripheral artery disease, impaired renal or liver function tests, nitrate, lipid lowering, hormone replacement therapy, known nitrate intolerance, contraindications for receiving β -blockers, smoking, childbearing age in women not using reliable contraception. The research protocol was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the local review boards.

Study design

Our study had a prospective, randomized, open design for parallel study groups. Laboratory tests were performed and endothelial function was evaluated by FMD during the initial screening and after the treatment period. The patients were randomized either to carvedilol 2×12.5 mg daily ($n=19$) or metoprolol succinate 1×50 mg daily ($n=17$). The dose of the study drug was doubled after 4 weeks if the patient had not reached the blood pressure goal of

130/80 mmHg. The list of randomization numbers was used to label the drug boxes, which were given to the participants sequentially. Side effects, concomitant diseases, blood pressure and ECG were assessed by interview and physical examination every fourth week during the study. Baseline medications were held constant through the entire study period.

Blood pressure measurement

Blood pressure and heart rate were recorded in the sitting position, after at least 10 min of rest. Systolic blood pressure was recorded as the pressure noted when Korotkoff sound I appeared and diastolic blood pressure when Korotkoff sound V disappeared. Blood pressure was measured in triplicates with a sphygmomanometer on the same arm and by the same investigator, and the mean of these values was calculated.

Laboratory measurement

Blood samples were analyzed for glycosylated hemoglobin, plasma glucose, total cholesterol, low density lipoprotein cholesterol, high- density cholesterol, triglyceride, liver enzyme levels, creatinin concentrations by standard clinical laboratory methods. The tissue plasminogen activator, plasminogen activator and vascular cell adhesion molecule-1 levels were were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (Asserachrom tPA and PAI-1 kits, and h-sVCAM-1 ELISA kit, Roche Inc, France).

Endothelial function

The evaluation of endothelial function was performed according to the method described by Celermajer (10) et al and as stated in the report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force (11). All patients were studied minimum 10 hours after the last meal. The patient lay supine in a quiet, temperature-controlled room (20-25°C) for 10 minutes before the study with the right arm gently immobilized in extension. The diameter of the brachial artery was measured from 2D ultrasound images using a commercially available system (Hewlett-Packard SONOS 2000, 7.5-MHz probe). Images were recorded on an S-VHS tape. In each

study, scans were taken at rest, during reactive hyperemia, at rest again and after sublingual nitrates. The brachial artery on the dominant arm was scanned in longitudinal section, 2 to 15 cm above the antecubital fossa. The settings were adjusted to optimize the lumen/arterial wall interface and held constant during testing. Measurements were taken from the anterior to the posterior “m” line at end diastole, incident with the R-wave on the electrocardiogram, at a fix distance from an anatomic marker, such as a bifurcation. Three cardiac cycles were analyzed for each scan and measurements were averaged. Following the baseline measurements a forearm cuff occlusion was obtained for 4.5 minutes below the elbow by inflation of pneumatic tourniquet to a pressure of 270 mmHg. The artery diameters were performed within one minute after cuff deflation during reactive hyperemia. Following 10 minutes of recovery phase a resting scan was repeated. Sublingual nitrates (400 µg of glyceryl trinitrate) were then administered. The last set of scans was performed 3 minutes after nitrate intake, during nitrate-mediated dilatation (NMD). The maximum FMD and (NMD) diameter measurements were calculated as the average of three consecutive maximum diameter measurements after hyperaemia and sublingual nitrate. Then the FMD and NMD were calculated as the percent change in diameter compared with baseline resting diameters. The images were read independently by 2 separate observers blinded to the patient identity and the study phase.

Statistical analysis

The results are expressed as mean \pm SD. Comparisons were made using the paired samples Student’s t-test when assessing the differences at randomization and at study end. To assess correlation between data Pearson’s correlation was used. Differences were considered statistically significant at the level of $p < 0.05$ (two-sided).

Results

Carvedilol treatment significantly improved the endothelial vasomotor function in patients with hypertension and type 2 diabetes, but the effect of metoprolol was not significant.

Patient characteristics at randomization are summarized in Table I.

There were no significant differences between the two groups in any of the characteristics.

Blood pressure and heart rate values before and after treatment are presented in Table II.

Both treatment groups had significant decreases in systolic and diastolic blood pressure and heart rate. There were no significant differences between the two treatment groups in this respect. The doses of the study drugs were doubled after 4 weeks if the patient had not reached the blood pressure goal of 130/80 mmHg. The mean dose of carvedilol was 35.5 ± 12.7 mg, the mean dose of metoprolol succinate was 67.6 ± 24.6 mg during the study period.

There were no significant differences between the flow-mediated dilatation values measured one week prior to randomization, at screening (W-1), and at randomization (W0), in both groups (W-1 2.71 ± 1.12 % vs. W0 2.72 ± 1.11 % in carvedilol group, W-1 3.41 ± 0.97 % vs. W0 3.42 ± 0.89 % in metoprolol group), which supports the reproducibility and repeatability of the method used. A twelve week treatment with carvedilol significantly improved FMD (W0 2.72 ± 1.11 % vs. W12 5.50 ± 2.28 %, $p < 0.0001$), while treatment with metoprolol did not change it significantly (W0 3.42 ± 0.89 % vs. W12 3.99 ± 1.18 %, $p = \text{ns}$) (Table 3., Figure 1.).

Nitrate mediated dilatation, which is endothelium independent, was not influenced by either treatment (W0 13.35 ± 4.41 % vs. W12 13.31 ± 3.14 %, $p = \text{ns}$ in carvedilol group, W0 12.96 ± 3.51 % vs. W12 12.15 ± 2.61 %, $p = \text{ns}$ in metoprolol group (Table III., Figure I.).

Carbohydrate or lipid parameters did not change significantly throughout the study period in both groups (Table IV.). The plasma levels of tissue plasminogen activator (normal range: 1-12 ng/mL) and plasminogen activator inhibitor-1 (normal range: 4-43 ng/mL) were elevated at the randomization, but did not change after treatment in both groups. The vascular cell

adhesion molecule-1 levels (normal range: 363-484 ng/mL) were in normal range and also unchanged for the study end in both groups.

Discussion

There are several methods available to assess endothelial function. In the present study, we used two different methods. We utilized FMD to characterize the effects of the endothelium on vasomotor function. We also investigated the effects of endothelium on fibrinolysis by measuring t-PA and PAI-1 levels, on adhesion by VCAM-1 concentration. To our knowledge, this was the first human clinical study to perform a head to head comparison of the effects of the selective beta₁ adrenergic receptor blocker metoprolol with the non-selective beta receptor blocker and alpha₁ adrenergic receptor blocker carvedilol on endothelial function. The two drugs have been compared in animal studies before. Integnan et al found that carvedilol significantly improved hypertension – induced endothelial dysfunction in hypertensive rats, while metoprolol had no effect on it (12). Matsuda et al reported that carvedilol improved FMD in the brachial arteries of coronary artery disease patients (13). On the other hand, Panza et al found no effect of beta receptor blockade on the endothelial function of microvessels (14).

On the basis of our results, treatment with carvedilol improved FMD significantly compared with metoprolol. The mechanism of this effect is not completely understood. The effects of the two drugs on blood pressure and heart rate were similar. This suggests that the improved endothelial function seen in the carvedilol group was independent from the blood pressure lowering effect of the drug, and that blood pressure reduction alone does not correct endothelial dysfunction in hypertensive patients with type 2 diabetes. The effects of carvedilol on carbohydrate metabolism has been studied before. One study found that carvedilol had a beneficial effect on insulin sensitivity assessed by isoglycemic hyperinsulinemic glucose clamp in non-diabetic hypertensive patients (15), while others found no effect of carvedilol on

glucose tolerance or carbohydrate metabolism in patients with diabetes (16). In our study of diabetic patients we found no effects of carvedilol or metoprolol on fasting plasma glucose and glycosylated hemoglobin levels. We also found that neither treatment had a significant effect on serum lipid levels after 12 weeks, which agrees with the findings by Goto et al in hypertensive patients treated with carvedilol for 12 weeks (17), and with other studies, which also found neutral effects of carvedilol on total-, high density-, or low density lipoprotein cholesterol levels (18, 19). Thus, our findings also suggest that the improvement in endothelial function seen after carvedilol treatment was not associated with its effects on carbohydrate or lipid metabolism. Since the selective beta1 adrenergic receptor blocker metoprolol showed no effect on endothelial function, we theorize that the improvement in FMD seen in our study was mediated by the alpha1 adrenergic receptor blocking and/or anti oxidant properties of carvedilol.

In a recent study, Courtney et al found that the alpha1 adrenergic blocker doxazosin improved endothelial function assessed by forearm plethysmography in hypertensive patients (20). Similarly, Komai et al showed by plethysmography that doxazosin improves endothelial function in patients with essential hypertension (21).

Carvedilol has been shown to act as a scavenger of free oxidative radicals (22, 23). In type 2 diabetes and hypertension the vasodilator nitric oxide is diminished, likely attributable to excessive production of reactive oxygen species (24). This could result in impaired endothelial function (25). As nitric oxide synthase activity, and thus, nitric oxide availability, is enhanced when reactive oxygen species are reduced, the radical scavenging property of antihypertensive agents like carvedilol could improve endothelial function via this mechanism (23).

The assessment of a different aspect of endothelial function is possible through examining the fibrinolytic system. We found that neither carvedilol nor metoprolol had a significant effect

on t-PA or PAI-1 values. Our findings agree with those of Maqueda, who also found no effects of carvedilol on endothelial fibrinolytic activity of patients with moderate hypertension (26). The effect of endothelium on adhesion was examined in our study by measuring VCAM-1, and we found that neither carvedilol, nor metoprolol had a significant influence on it. To our knowledge, the effect of carvedilol on VCAM-1 levels has not been studied before in this aspect.

We conclude that 12 weeks of treatment with carvedilol improves endothelial (vasomotor) function judged by FMD in patients with type 2 diabetes and hypertension compared to metoprolol succinat. At least in part, this favorable effect of carvedilol could be due to its other effects.

References

1. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J*. 1989;3:2007-18.
2. Lüscher TF, Barton M. Biology of the endothelium. *Clin Cardiol*. 1997 Nov;20(11 Suppl 2):II-3-10.
3. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 1993;329:2002-12.
4. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME, Gallagher SJ, Coleman SM, Loscalzo J, Dzau VJ. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest*. 1990 ;86:228-34.
5. Benjamin N, Vane J. Nitric oxide and hypertension. *Circulation*. 1996;94:1197-8.
6. Lind L, Lithell H. Decreased peripheral blood flow in the pathogenesis of the metabolic syndrome comprising hypertension, hyperlipidemia, and hyperinsulinemia. *Am Heart J*. 1993;125:1494-7.
7. Sowers JR, Epstein M. Diabetes mellitus and associated hypertension, vascular disease, and nephropathy. An update. *Hypertension*. 1995;26:869-79.
8. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Sudano I, Salvetti A. Effects of antihypertensive drugs on endothelial dysfunction: clinical implications. *Drugs*. 2002;62:265-84.

9. Nagy L, Tarjan J, Samoczi M, Kovacs I, Takacs J. Effect of benazepril on endothelial function in previously untreated hypertensive patients. *Am J Ther.* 1998;5:233-6.
10. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE.. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 1992;340:1111-5.
11. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R; International Brachial Artery Reactivity Task Force. International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:257-65.
12. Intengan HD, Schiffrin EL. Disparate effects of carvedilol versus metoprolol treatment of stroke-prone spontaneously hypertensive rats on endothelial function of resistance arteries. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2000;35:763-8.
13. Matsuda Y, Akita H, Terashima M, Shiga N, Kanazawa K, Yokoyama M. Carvedilol improves endothelium-dependent dilatation in patients with coronary artery disease. *Am Heart J.* 2000;140:753-9.
14. Panza JA, Quyyumi AA, Callahan TS, Epstein SE. Effect of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension *J Am Coll Cardiol* 1993; 21:1145-51.
15. Jacob S, Rett K, Wicklmayr M, Agrawal B, Augustin HJ, Dietze GJ. Differential effect of chronic treatment with two beta-blocking agents on insulin sensitivity: the carvedilol-metoprolol study. *J Hypertens.* 1996;14:489-94.
16. McTavish D, Campoli-Richards D, Sorkin EM. Carvedilol. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy. *Drugs* 1993; 45: 232-58.
17. Goto Y, Tamachi H, Fusegawa Y, Nakaya N, Homma Y, Mikami M, Iori S, Yamazaki A. Effects of Carvedilol on Serum Lipids in Patients with Essential Hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1991;18 Suppl 4:S45-50.
18. Hauf-Zachariou U, Widmann L, Zulsdorf B, Hennig M, Lang PD. A double-blind comparison of the effects of carvedilol and captopril on serum lipid concentrations

- in patients with mild to moderate essential hypertension and dyslipidaemia. *Eur J Clin Pharmacol*. 1993;45:95-100.
19. Seguchi H, Nakamura H, Aosaki N, Homma Y, Mikami Y, Takahashi S. Effects of carvedilol on serum lipids in hypertensive and normotensive subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 1990;38 Suppl 2:S139-42.
 20. Courtney CH, McCance DR, Atkinson AB, Bassett J, Ennis CN, Sheridan B, Bell PM. Effect of the alpha-adrenergic blocker, doxazosin, on endothelial function and insulin action. *Metabolism*. 2003;52:1147-52.
 21. Komai N, Ohishi M, Moriguchi A, Yanagitani Y, Jinno T, Matsumoto K, Katsuya T, Rakugi H, Higaki J, Ogihara T. Low-dose doxazosin improved aortic stiffness and endothelial dysfunction as measured by noninvasive evaluation. *Hypertens Res*. 2002;25:5-10.
 22. Jacob S, Henriksen EJ, Fogt DL, DalPonte D, Dietze GJ. Celiprolol improves insulin-stimulated glucose transport activity in skeletal muscle of obese Zucker rats (abst). *Diabetes* 1996 Suppl. 2, 45: 1143.
 23. Mehta JL, Lopez LM, Chen L, Cox OE. Alterations in nitric oxide synthase activity, superoxide anion generation, and platelet aggregation in systemic hypertension, and the effects of celiprolol. *Am J Cardiol* 1994;74:901-5.
 24. Roesen P, Ballhausen T, Bloch W, Addis K. Endothelial relaxation is disturbed by oxidative stress in the diabetic rat heart: influence of tocopherol as an antioxidant. *Diabetologia* 1995;38:1157-68.
 25. Jacob S, Rett K, Henriksen EJ. Antihypertensive Therapy and Insulin Sensitivity: Do We Have to Redefine the Role of β -Blocking Agents? *Am J Hypertension* 1998;11:1258-1265.
 26. Maqueda G. Adrenoreceptors, endothelial function, and lipid profile: effect of atenolol, doxazosin, and carvedilol. *Coronary Artery Disease* 1994; 5: 909-18.

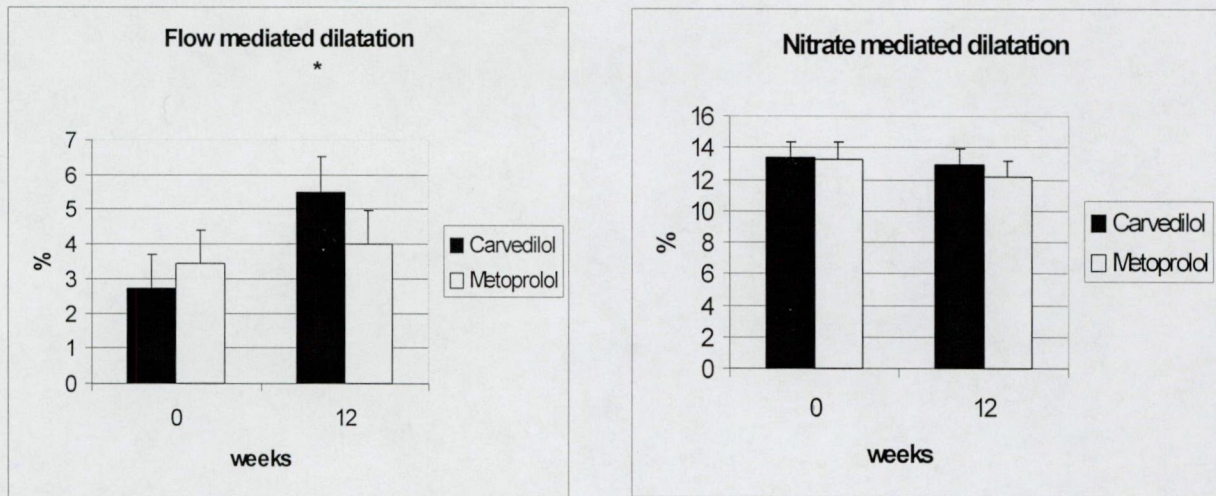


Figure I. Flow-mediated and nitrate-mediated dilatation: Endothelium-dependent flow-mediated dilatation (FMD) was significantly better after carvedilol (* $P < 0.0001$) (■). In metoprolol group (□) there were no significant improvement in endothelial function at the study end. However, there were no significant differences in nitroglycerin-induced endothelium-independent vasodilatation (NMD) ($P = ns$) in both groups.

Table I. Patient characteristics.

	Carvedilol (n=19)	Metoprolol (n=17)
Females/males	9/10	7/10
Age (years)	56.3±6.4	56.6±7.9
Duration of hypertension (years)	8.6±7.9	6.2±6.7
Duration of diabetes (years)	5.0±4.1	3.8±4.9
Systolic Blood press (mmHg)	137.7±9.0	151.3±6.8
Diastolic Blood pressure (mmHg)	96.8±5.7	94.7±5.9
Heart rate (1/min)	85.1±11.4	91.7±9.9
FMD (%)	2.72±1.11	3.42±0.89

Data are presented as mean ± SD
FMD:flow-mediated vasodilatation

Table II. Blood pressure and heart rate before and after treatment.

	Carvedilol (n=19)			Metoprolol (n=17)		
	Randomi- zation (W ₀)	12 weeks (W ₁₂)	P	Randomi- zation (W ₀)	12 weeks (W ₁₂)	P
Systolic (mmHg)	153.7±9.0	133.6±7.6	<0.0001	151.3±6.8	133.2±4.9	<0.0001
Diastolic (mmHg)	96.8±5.7	81.6±5.3	<0.0001	94.7±5.9	82.1±2.9	<0.0001
Heart rate (1/min)	85.1±11.4	70.8±7.3	<0.0001	91.7±9.9	73.5±9.3	<0.0001

Data are presented as mean ± SD

Table III. FMD and NMD values during the study.

	Carvedilol (n=19)		Metoprolol (n=17)	
Visits	FMD	NMD	FMD	NMD
	(%)	(%)	(%)	(%)
Screening (W ₋₁)	2.71±1.12	13.61±5.38	3.41±0.97	12.57±3.56
Randomizatio n (W ₀)	2.72±1.11	13.35±4.41	3.42±0.89	12.96±3.51
12 weeks (W ₁₂)	5.50±2.28*	13.31±3.14	3.99±1.18	12.15±2.61

Data are presented as mean ± SD,* p<0,0001 compared to W0

Table IV. Effects of carvedilol and metoprolol on carbohydrate and lipid parameters and tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor-1 and vascular cell adhesion molecule-1

Parameters	Carvedilol (n=19)			Metoprolol (n=17)		
	W ₀	W ₁₂	P	W ₀	W ₁₂	p
HbA _{1C} (%)	6.41±0.69	6.73±1.12	0.5421	6.44±0.55	6.81±1.35	0.4326
Fasting glucose (mmol/L)	7.15±1.93	7.35±2.57	0.7172	6.78±1.34	6.75±1.44	0.9057
Total cholesterol (mmol/L)	5.24±0.89	5.25±0.89	0.5227	5.34±0.73	5.18±1.11	0.4326
LDL-cholesterol (mmol/L)	3.02±0.84	3.11±0.66	0.9622	3.14±0.68	2.99±0.83	0.5509
HDL-cholesterol (mmol/L)	1.33±0.36	1.26±0.26	0.3626	1.24±0.35	1.31±0.44	0.9443
Triglycerides (mmol/L)	1.69±0.45	1.72±0.68	0.8871	1.76±0.52	1.71±0.69	0.9382
t-PA (ng/mL)	55.27±24.24	53.51±18.13	0.5694	71.81±17.89	59.75±21.82	0.0712
PAI-1 (ng/mL)	248.44±149.69	220.44±129.91	0.3011	290.02±164.07	271.51±148.31	0.5303
sVCAM-1 (ng/mL)	384.36±138.47	383.63±116.81	0.8767	357.56±94.33	371.22±80.82	0.5302

Data are presented as mean ± SD. (W0-randomization, W12- 12 weeks visit).

HbA_{1C}: glycosylated hemoglobin, LDL-cholesterol: low-density lipoprotein cholesterol, HDL-cholesterol: high-density lipoprotein cholesterol, t-PA: tissue plasminogen activator, PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1, VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1